LITHIUM
UND DIE KALIUM-HOMÖOSTASE IM ISOLIERTEN RÜCKENMARK DES FROSCHES

Claudia Koestler

Diss.
München
1984

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. K. Thurau
Prof. Dr. med. E. Gerlach
Prof. Dr. med. G. ten Bruggencate

LITHIUM UND DIE KALIUM-HOMÖOSTASE IM ISOLIERTEN RÜCKENMARK DES FROSCHES

Inaugural-Disseration
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Claudia Koestler
aus München

1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof.. Dr. G. ten Bruggencate
Mitberichterstatter :
Dekan : Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 6.12.1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A)	EINLEITUNG	1
1.	Geschichtliche Anmerkungen	1
2.	Die manisch-depressive Erkrankung	2
3.	Lithium(Li)-Therapie	3
4.	Theorien über die Li-Wirkung	4
5.	Experimentelle Fragestellung	11
B)	METHODIK	13
1.	Froschpräparation	13
2.	Ableitkammer und Vorbereitung des Präparates zur Ableitung	14
3.	Ionensensitive Mikroelektroden	15
3.1	Bau ionensensitiver Mikroelektroden	15
3.2	Funktionsweise ionensensitiver Mikroelektroden	17
3.3	Eichung der K-sensitiven Mikroelektrode	20
4.	Ableittechnik	21
5.	Aufsuchen von Motoneuronen	24
6.	Membranwiderstands-Messungen	25
C)	ERGEBNISSE	26
1.	Li-Wirkung auf spinale Motoneurone	26
1.1	Li-Wirkung auf die Motoneuronenmembran	26
1.1.1	Membranpotential	26
1.1.2	Membranwiderstand	28
1.1.3	Aktionspotentialamplitude	28
1.2	Li-Wirkung auf spinale Motoneurone bei repetitiver DR-Stimulation	30
1.2.1	Verhalten des Membranpotentials, des extra- und intrazellulären Kaliums bei repetitiver Stimulation unter Normalbedingungen	30

		Seite
1.2.2	Membranwiderstand in der PTH-Phase	35
1.2.3	Ouabain-Wirkung auf die PTH	35
1.2.4	Li-Wirkung auf die PTH	38
2.	Wechselwirkung zwischen Li und K	38
2.1	Li-Wirkung auf das extrazelluläre K (K_e)	38
2.1.1	Li-Wirkung auf die K_e-Basis	38
2.1.2	Zusammenhang zwischen Li, K_e und Spontanaktivität	40
2.1.3	Wirkung einer Reduktion des extrazellulären Natriums (Na) auf K_e	42
2.1.4	Li-Wirkung auf K_e nach repetitiver DR-Stimulation	43
2.1.5	K-Wirkung auf K_e nach repetitiver DR-Stimulation	45
2.2	Li-Wirkung auf das intrazelluläre K (K_i)	45
2.2.1	Li-Wirkung auf die K_i-Basiskonzentration	45
2.2.2	Li-Wirkung auf das Verhalten von K_i bei repetitiver DR-Stimulation	47
3.	Li- und K-Wirkung auf die synaptische Übertragung	48
3.1	Li-Wirkung auf die Spontanaktivität	48
3.2	Li-Wirkung auf spinale Reflexe	48
3.3	K-Wirkung auf Membranpotential und Spontanaktivität	50
3.4	K-Wirkung auf spinale Reflexe	50
3.5	Posttetanische Fazilitierung des DR-VRP und Li-Wirkung	52
3.6	Extrazelluläres K und PTH	54
D)	DISKUSSION	55
1.	Li und die Na-K-Pumpe	55
1.1	Transmembranale Li-Transportwege	55
1.1.1	Li-Einwärtstransport über die spannungsabhängigen Na-Kanäle	55
1.1.2	Li-Einwärtstransport über die Na-K-Pumpe	56

		Seite
1.1.3	Li-Leckstrom in die Zelle	57
1.1.4	Li-Auswärtstransport über die Na-K-Pumpe	58
1.1.5	Li-Auswärtstransport über das Na-Li-Gegentransportsystem	59
1.1.6	Ouabain-resistenter, von extrazellulärem Na unabhängiger Li-Ausstrom	59
1.2	Die Elektrogenität der Na-K-Pumpe	60
1.2.1	PTH	60
1.2.2	Posttetanischer K_e-Undershoot	61
1.2.3	PTH primärer Afferenzen	61
1.3	Li-Wirkung auf die elektrogene Na-K-Pumpe	62
1.4	Folgerungen für die Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe	63
2.	Li-Wirkung am Froschrückenmark	66
2.1	Li-Wirkung auf Membranpotential und Membranwiderstand	66
2.2	Li-Wirkung auf PTH, posttetanische Reflexpotenzierung und K_e-Kinetik	68
2.3	Li-Wirkung auf die synaptische Übertragung	70
3.	Ausblick	73
E)	ZUSAMMENFASSUNG	78
F)	LITERATURVERZEICHNIS	80

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534927_0009

A) EINLEITUNG

Geschichtliche Anmerkungen

Das Element Lithium (Li) wurde 1818 von dem schwedischen Chemiker ARFWEDSON in einem Mineral entdeckt und erhielt daraufhin seinen Namen in Anlehnung an das griechische Wort für "Stein".

Auf medizinischem Gebiet erlangte Li zum ersten Mal im Jahre 1850 Bedeutung. Es wurde damals zur Bekämpfung der Gicht eingesetzt, da man erkannt hatte, daß die Li-Salze der Harnsäure leichter löslich sind als die natürlicherweise im Körper vorkommenden Urate. Jedoch erwies sich Li in dieser Hinsicht als wenig effektiv. Auch die Therapieversuche mit Li bei anderen Leiden wie Diabetes mellitus oder Krebserkrankungen im folgenden Jahrhundert blieben erfolglos.

Erst im Jahre 1949 begann Li als Therapeutikum in der Psychiatrie dauerhafte Bedeutung zu gewinnen. Damals berichtete der australische Psychiater CADE von dem deutlich gebesserten Zustand manisch kranker Patienten unter der Behandlung mit Li. Folgendes Experiment hatte CADE auf die Idee gebracht, diesen Kranken Li zu verabreichen: auf der Suche nach toxischen Ausscheidungsprodukten, welche er im Harn von Geisteskranken vermutete, wollte CADE den Urin von Patienten und von gesunden Kontrollpersonen Meerschweinchen injizieren. Um die Uratsalze im Harn löslich zu halten, hatte er ihm vor der Injektion Li zugesetzt und daraufhin festgestellt, daß die sonst so unruhigen Versuchstiere unter Li deutlich zahmer wurden. Eben diesen beruhigenden Effekt konnte CADE dann auch bei seinen manischen Patienten durch Li-Gabe erzielen.

Seine Ergebnisse wurden wenig später durch Doppelblindstudien in Dänemark bestätigt, wo sich vor allem der Psychiater

SCHOU intensiv mit der therapeutischen Wirkung von Li bei psychischen Erkrankungen beschäftigte. Nachdem in den Jahren 1959 und 1960 der englische Psychiater HARTINGHAN und sein dänischer Kollege BAASTRUP unabhängig voneinander die vorbeugende Wirkung von Li sowohl bei manischen als auch depressiven Krankheitsbildern entdeckt hatten, wurde Li Anfang der sechziger Jahre endgültig als wichtiges Therapeutikum bei affektiven Psychosen in den europäischen Ländern anerkannt.

In den USA hatte man in den vierziger Jahren sehr schlechte Erfahrungen mit LiCl als Kochsalzersatz für Hypertoniker gemacht. In Erinnerung an die schweren Fälle von Li-Intoxikationen wurde Li erst um das Jahr 1970 auch in den USA zugelassen und schließlich als Mittel der Wahl bei der Therapie und Prophylaxe bestimmter Formen der affektiven Psychosen verabreicht.

Die manisch-depressive Erkrankung

Nach SCHOU (1980) steht heute jeder 1000ste bis 2000ste Bürger in Dänemark und in vielen anderen Ländern unter einer Li-Behandlung. Diese Zahl überrascht nicht, wenn man bedenkt, daß das Erkrankungsrisiko für die Gesamtheit der affektiven Psychosen 1 bis 2 % beträgt.

Zwar weisen Zwillingsstudien auf die Bedeutung genetischer Faktoren bei der Entstehung der manisch-depressiven Erkrankung hin, jedoch herrscht bis heute Unklarheit über ihre genaue Ätiologie und Pathogenese. Nach BLEULER (1979) kann diese Erkrankung "zwischen früher Jugend und hohem Greisenalter jederzeit auftreten." Sie verläuft in ungefähr einem Viertel der Fälle bipolar, d.h. mit abwechselenden Phasen von Manie und Depression und vollständiger Remission in den Intervallen. Häufiger aber manifestiert sich die Erkrankung monopolar in einer einzigen oder mehreren depressiven Phasen während des Lebens, seltener in rein manischen Phasen.

Eine solche Phase dauert im Durchschnitt 3 bis 6 Monate, wobei sich die Manie in gehobener Stimmung, beschleunigtem, ideenflüchtigem Denken und in inhaltlichen Denkstörungen mit mangelnder Selbstkritik und übersteigertem Selbstwertgefühl bis hin zum Größenwahn äußern kann. Dazu kommt häufig eine vermehrte Reizbarkeit und eine starke motorische Unruhe, die sich bis zur Tobsucht steigern kann. In ausgeprägten manischen Zuständen setzen die Betroffenen oft ihre berufliche, finanzielle und familiäre Position aufs Spiel. Auch fügen sie eventuell ihrer Umgebung Schaden zu, so daß oft eine Hospitalisierung zum Schutz der Kranken und ihrer Umwelt unumgänglich ist.
Im Gegensatz hierzu ist die depressive Phase gekennzeichnet durch eine krankhaft gedrückte Stimmung. Das Denken ist verlangsamt und wird oft von der wahnhaften Überzeugung beherrscht, krank, verarmt und schuldig zu sein. Weiterhin ist die Depression durch eine starke motorische und affektive Hemmung und eine extreme Entschlußunfähigkeit charakterisiert. Besonders in den Übergangsphasen mit noch vorhandenem oder wieder einsetzendem Antrieb sind die Patienten suizidgefährdet.

Li-Therapie

Durch die chronische Li-Einnahme läßt sich bei den Patienten eine Stabilisierung ihrer Stimmung erzielen. Sowohl die manische als auch die depressive Phase treten in stark gemilderter Form auf oder werden vollständig unterdrückt. Jedoch zeigt sich diese prophylaktische Li-Wirkung oft erst einige Monate nach Beginn der Einnahme. Dagegen kann Li bei der Manie auch akut, innerhalb weniger Tage, eine Besserung herbeiführen.

Ein Problem der Li-Therapie besteht in der geringen therapeutischen Breite dieser Substanz. Angestrebt wird ein Blutserumspiegel von 0,4 bis 1,2 mM. Bereits eine Serumkonzentration über 2 mM geht häufig mit beträchtlichen Nebenwirkungen

einher wie Händetremor, Übelkeit, Erbrechen und gelegentlich Symptomen eines akuten hirnorganischen Psychosyndroms. Schwere Li-Intoxikationen rufen cerebrale Krampfanfälle hervor und können infolge starker endokriner, renaler und kardiovaskulärer Störungen tödlich enden.

Theorien über die Li-Wirkung

Es sind viele Theorien aufgestellt worden über den möglichen Wirkungsmechanismus von Li und über die Störungen, welche den endogenen affektiven Psychosen ursächlich zugrunde liegen könnten. Bis heute jedoch ist es nicht gelungen, die vielen einzelnen Forschungsergebnisse über die Wirkung und die Nebenwirkungen von Li zu einer einheitlichen Vorstellung über seinen Angriffspunkt bei dieser Krankheit zu vereinen.

Die meisten Theorien stützen sich auf die grundlegende strukturelle und physikalische Ähnlichkeit von Li mit den beiden anderen Alkalimetall-Ionen Na und K. Hierdurch ist es dem Li möglich, viele der Wirkungen dieser beiden für lebende Zellen so wichtigen Kationen nachzuahmen. Natürlicherweise kommt Li nur in ganz geringen Spuren im Körper vor.
Jedoch sind auch strukturelle Unterschiede zwischen Li und Na bzw. K vorhanden, welche zu einer unterschiedlichen Effektivität von Li beim Ersatz dieser beiden Kationen führen. So kann Li beispielsweise die Na-Ionen bei ihrem Einstrom in die Nervenzelle während des Aktionspotentials vollständig ersetzen (KEYNES und SWAN 1959). Hinsichtlich seiner Ähnlichkeit mit K haben u.a. RANG und RITCHIE (1968) gezeigt, daß Li eine gewisse Affinität zur externen K-Stelle der Na-K-ATPase besitzt, während es die Funktion von Na an der cytoplasmatischen Seite dieses Enzyms nur in äußerst geringem Maß wahrnehmen könne.

Da Li eine ähnliche Ladungsdichte wie das Ca-Ion aufweist, und sein hydratisierter Ionenradius mit dem von Mg-Ionen

vergleichbar ist, kann Li auch mit diesen beiden divalenten Kationen in Kompetition treten.

Na, K, Ca und Mg haben ganz verschiedene und grundlegende Aufgaben in lebenden Zellsystemen zu erfüllen. Indem Li diese 4 Kationen mehr oder weniger gut zu ersetzen vermag und sich einmal eher als Agonist, an anderer Stelle mehr als Antagonist dieser Ionen verhält, könnte hier eine Erklärung für die mannigfaltigen Wirkungen und Nebenwirkungen des Li-Salzes bei Mensch und Versuchstier liegen. Hinzu kommen noch die möglichen Eigenwirkungen von Li auf Zellbestandteile und Zellfunktionen, unabhängig von der Kompetition mit anderen Ionen. Es wären beispielsweise durch Li-Ionen induzierte Konformationsänderungen von Zellproteinen denkbar.

Die gegenwärtig aktuellsten Ergebnisse und Theorien über den Wirkungsmechanismus von Li sollen im folgenden kurz vorgestellt werden. Sie lassen sich grob in 4 Punkte gliedern:

1. Li-Wirkung auf den Transport und die Verteilung von Ionen über Zellmembranen,
2. Li-Wirkung auf die Enzymregulation,
3. Li-Wirkung auf Neurotransmitter,
4. Li-Wirkung auf Rezeptoren.

1. Wirkung von Li auf den Transport und die Verteilung von Ionen über Zellmembranen

Für die Aufrechterhaltung des Membranpotentials und für viele neurophysiologische Prozesse spielen besonders die transmembranale Verteilung und der transmembranale Transport von Na und K eine Rolle.

Der Einfluß von Li auf den Ionentransport über Zellmembranen ist besonders am Modell des Erythrozyten eingehend studiert worden. Dabei wurde zum ersten Mal von MENDELS und FRAZER (1973) die Theorie aufgestellt, daß Unterschiede im Membrantransportsystem grundlegend für die Wirkung von Li bei der Therapie der manisch-depressiven Erkrankung sein könnten. Sie fanden nämlich in den Erythrozyten von manisch-depressiven Patienten, welche auf eine Li-Therapie ansprachen, eine höhere Li-Konzentration im Verhältnis zum Blutplasma verglichen mit Gesunden oder mit solchen Patienten, bei denen Li keine Besserung herbeiführen konnte.

Die Arbeitsgruppe von PANDEY et al. (1979) ging diesem Befund weiter nach und entdeckte, daß zumindest bei einer Untergruppe von manisch-depressiv Kranken das Carriersystem für den Na-Li-Gegentransport am Erythrozyten in seiner Funktion vermindert zu sein scheint. Über dieses Carriersystem kann je nach den Konzentrationsverhältnissen von Na und Li das Li-Ion im Austausch gegen ein Na-Ion aus dem Erythrozyten hinaus oder in das Cytoplasma hineintransportiert werden. TOSTESON (1981a) stellte nun die Theorie auf, daß ein Defekt im Na-Li-Gegentransportsystem am roten Blutkörperchen genetisch determiniert und mit ähnlichen Transportdefekten für Ionen und Neurotransmitter im Nervensystem verbunden sein könnte. Ein solcher Defekt wiederum könnte an der Entstehung der manisch-depressiven Erkrankung Anteil haben.

Neben dem Na-Li-Gegentransportsystem ist vor allem die Na-K-Pumpe als möglicher Transportweg für Li über die Zellmembran untersucht worden. Es wurden mehrere Theorien über die Wirkung von Li auf diese Pumpe entwickelt. Die Na-K-Pumpe ist in der Zellmembran lokalisiert und sorgt unter Energieverbrauch u.a. für die Aufrechterhaltung der unterschiedlichen intra- und extrazellulären Ionenkonzentrationen, indem sie ständig K in die Zelle hinein- und Na her-

ausschafft. Hinsichtlich der Li-Wirkung an der externen K-Seite und der internen, d.h. dem Cytoplasma zugewandten, Na-Seite des Pumpenenzyms, kamen viele Forscher an ganz unterschiedlichen Versuchsobjekten zu ähnlichen Ergebnissen, welche in der Diskussion dieser Arbeit ausführlicher dargestellt werden. Vorläufig sei erwähnt, daß viele der Li-Wirkungen mit einem Einfluß von Li auf die Na-K-Pumpe in Verbindung stehen könnten. Auch die transmembranale Ionenverteilung würde durch eine derartige Li-Wirkung auf die Na-K-Pumpe verändert werden. Der Li-Einfluß speziell auf die transmembranale K-Kinetik wird einen Schwerpunkt bei den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit bilden.

2. Wirkung von Li auf die Enzymregulation

Na- und K-, besonders aber Ca- und Mg-Ionen spielen auch bei der Regulation von Enzymsystemen als Cofaktoren eine große Rolle.
In dieser Hinsicht wurde vor allem die Wechselwirkung von Li mit dem Ca-abhängigen cAMP-System von vielen Forschern an ganz unterschiedlichen Organen studiert. So berichten beispielsweise BUNNEY et al. (1979), daß Li die cAMP vermittelten Prozesse an Niere, Schilddrüse und ZNS hemmend beeinflusse. Dieser Li-Effekt gäbe eine Erklärung für die vielfältigen Nebenwirkungen bei der Li-Therapie. Dazu zählt zum Beispiel der häufig bei Li-Patienten auftretende Diabetes insipidus. Er beruht möglicherweise auf einer Reduktion der cAMP-vermittelten ADH-Wirkung an der Niere durch Li. Auch die häufig beobachtete Struma ließe sich mit einer entsprechenden Hemmung der TSH-Wirkung an der Schilddrüse durch Li erklären. Weiterhin könnte Li auf diese Weise Effekte vieler Neurotransmitter oder der Prostaglandine antagonisieren. Die nicht selten vorkommenden Li-Nebenwirkungen von seiten des Gastrointestinaltraktes wie Diarrhoe, Übelkeit und Erbrechen könnten nach SINGER und ROTENBERG

(1973) in der Hemmung der cAMP-vermittelten Gastrinwirkung ihre Ursache haben. In derselben Richtung ließe sich schließlich die Li-Wirkung auf den eng mit dem cAMP-System verknüpften Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel interpretieren. So wird beispielsweise häufig eine Gewichtszunahme während der Li-Therapie registriert.

Weiterhin könnte Li auf die Enzymregulation Einfluß nehmen, indem es Effektoren wie Ca oder Mg von ihrer regulatorischen Stelle verdrängt oder selbst eine Effektorfunktion am Enzym ausübt. In diesem Zusammenhang stellen zum Beispiel MANDELL und KNAPP (1979) die Theorie auf, daß Li über eine Verdrängung von Ca die Konformation der Tryptophanhydroxylase verändere und somit in die Regulation der cerebralen Serotoninsynthese eingreife.

3. Li-Wirkung auf Neurotransmitter

Na, K, Ca und Mg sind schließlich auch wichtig als Effektoren an allosterischen Stellen von Carrier-Molekülen, welche den Transport von Neurotransmittern und deren Metaboliten regulieren. Durch unvollständigen Ersatz dieser Effektoren könnte Li auf die synaptische Übertragung Einfluß nehmen (BUNNEY et al. 1979).

Es wird schon länger vermutet, daß eine Änderung im Stoffwechsel bestimmter Neurotransmitter am Krankheitsgeschehen der affektiven Psychosen beteiligt sein könnte. Nach der in den sechziger Jahren entwickelten Katecholamin-Theorie sollen depressive Zustände mit einem Katecholaminmangel an den Synapsen bestimmter Gehirnregionen in Zusammenhang stehen. Umgekehrt wird die Manie auf einen Überschuß an monoaminergen Transmittern zurückgeführt.

In diese Richtung gehen auch klinische Befunde, von denen SINGER und ROTENBERG (1973) zusammenfassend berichten. Danach sollen Patienten in der manischen Phase vermehrt Katecholaminabbauprodukte ausscheiden, wobei jedoch, wie die Autoren betonen, die Unterscheidung zwischen Ursache und Folgeerscheinungen der Manie schwierig sei.

Nun gibt es verschiedene Hinweise darauf, daß Li in den Katecholaminmetabolismus einzugreifen vermag, indem es beispielsweise die Synthese von Noradrenalin hemme (CORRODI et al. 1967), den Abbau von Noradrenalin durch die Monoamino-Oxidase beschleunige (SCHILDKRAUT et al. 1966), oder die Freisetzung von Monoaminen auf einen Reiz hin vermindere (KATZ et al. 1968). Auch soll Li die Wiederaufnahme von Noradrenalin in die neuronalen Terminalen verstärken können, indem es ähnlich den Na-Ionen die Konfiguration von Carrierproteinen in der Zellmembran beeinflusse (BUNNEY et al. 1979).

Im Zusammenhang mit der oben dargelegten Katecholamin-Theorie würden diese Li-Effekte jedoch allenfalls die Therapieerfolge bei der Manie, nicht aber bei der Depression erklären. Auch stellt die Annahme eines Katecholamin-Überschusses in der manischen, und eines Katecholamin-Mangels in der depressiven Phase wahrscheinlich eine zu starke Vereinfachung der komplexen Vorgänge bei den affektiven Psychosen dar. Neuere Untersuchungen (s.u.) weisen auf die Möglichkeit veränderter Rezeptorempfindlichkeiten für Katecholamine bei der manisch-depressiven Erkrankung hin. Dies würde eine Erweiterung und Verfeinerung der Katecholamin-Theorie bedeuten.

Um das Kapitel der Li-Wirkung auf Neurotransmitter abzurunden, sei noch erwähnt, daß Li möglicherweise auch in den Metabolismus von Acetylcholin eingreift. Darauf weisen Untersuchungen von JOPE (1979) an Rattengehirnen hin.

4. Li-Wirkung auf Rezeptoren

Schließlich liegen auch Befunde über Li-Wirkungen vor, welche auf äußerst komplexen Mechanismen zu beruhen scheinen und vielleicht mehrere der oben genannten Angriffspunkte von Li beinhalten.

Hierzu gehören beispielsweise die Ergebnisse von Studien der Li-Wirkung auf die postsynaptischen Rezeptoren. BUNNEY et al. (1979) stellten in diesem Zusammenhang die Theorie auf, daß die cyclischen und häufig sehr raschen Stimmungsänderungen bei der manisch-depressiven Erkrankung die Folge primär abnormer Variationen in Agonistenkonzentrationen sein könnten, welche zu sekundären Änderungen in der Rezeptorempfindlichkeit führen würden. In Zeiten verminderter Konzentrationen an Neurotransmittern oder Hormonen könnte sich eine Rezeptorüberempfindlichkeit entwickeln, die bei Wiederanstieg der Agonistenkonzentration eine überschießende Wirkung mit sich brächte. Durch Versuche an Ratten konnte nun die Arbeitsgruppe von BUNNEY (1979) nachweisen, daß Li die Entstehung einer Supersensitivität von Dopaminrezeptoren infolge Haloperidolgabe verhindern könne.

Ähnliche Li-Effekte wurden schon 1977 von KLAWANS et al. beschrieben, und auch für die Acetylcholin-Rezeptoren liegen entsprechende Beobachtungen vor. So berichten PESTRONK und DRACHMAN (1980), daß Li die Zunahme der Acetylcholin-Rezeptoren an der postsynaptischen Skelettmuskelmembran nach Denervierung hemme. Nach den genannten Autoren lassen neueste Studien vermuten, daß Li die Degenerationsrate von Rezeptoren beschleunigt.

Schließlich sind auch die Arbeiten von KAFKA et al. (1982) über die Li-Wirkung auf circadiane Rhythmen im Zusammenhang mit dieser Rezeptortheorie zu erwähnen. KAFKA et al.

beobachteten, daß die natürlichen Tagesschwankungen in der Dichte einiger Rezeptoren unter Li-Einfluß fehlten.

Experimentelle Fragestellung

Alle oben genannten Befunde über die Li-Wirkung und die daraus abgeleiteten Theorien über die Ursachen der endogenen affektiven Psychosen wurden an ganz verschiedenen Versuchsobjekten erhoben: einigen Forschern dienten Erythrozytenmembranen (z.B. PANDEY et al. 1979) oder isolierte Nervenfasern (z.B. RITCHIE und STRAUB 1957) als Modell. Andere arbeiteten mit lebenden Versuchstieren, die sich vor allem für die Untersuchung chronischer Li-Effekte eignen (BUNNEY et al. 1979). Schließlich wurden auch klinische Studien über die Li-Wirkung am Patienten durchgeführt (z.B. SCHOU 1980).

Die vorliegende Arbeit beschreibt Experimente mit Li am isolierten Froschrückenmark. Im Gegensatz zu den Verhältnissen in Nervenzellkulturen oder an isolierten Nervenfasern ist an diesem Präparat die physiologische Struktur und Verschaltung der einzelnen Zellelemente unversehrt. Daher bietet das Froschrückenmark die Möglichkeit, in vitro die Li-Wirkung auf komplexe neuronale und ionale Prozesse zu untersuchen.
Die Arbeit beschäftigt sich vor allem mit dem Einfluß von Li auf die synaptische Übertragung, mit der Wechselwirkung zwischen Li und dem extrazellulären K und mit der Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe.

Für diese Untersuchungen waren intra- und extrazelluläre Ionenkonzentrationsmessungen erforderlich. Die Voraussetzung für derartige Messungen wurde mit der Entwicklung von flüssigen Ionenaustauschern Ende der sechziger Jahre geschaffen (THOMAS 1978). Diese Austauscher sind in ihrer

Funktion mit einer semipermeablen Membran vergleichbar. Sie konnten zunächst nur in Makroelektroden eingesetzt werden, bis es WALKER 1971 gelang, durch Behandlung mit Silikonöl die Spitzen von Mikropipetten hydrophob zu machen und damit das Problem ihrer Füllung mit dem lipophilen Austauscher zu lösen. Vor allem die Arbeitsgruppe von Prof. SIMON (ETH Zürich) entwickelte Flüssigmembranen mit hoher Selektivität für Na, K, Ca und Li.

Extrazelluläre K-Messungen mit ionensensitiven Mikroelektroden (ISME), wie sie auch in der vorliegenden Arbeit beschrieben werden, führten bereits ULLRICH et al. (1980) an der Kleinhirnrinde der Ratte durch. ULLRICH untersuchte vor allem die Li-Wirkung auf das extrazelluläre Kaliumsignal, welches bei repetitiver Reizung der Parallelfasern an der Kleinhirnoberfläche auftritt und in einem starken Anstieg mit darauf folgendem charakteristischem Abfall des extrazellulären K besteht. Letzterer spiegelt die Aktivität der Na-K-Pumpe wider.

Die Untersuchungen am Froschrückenmark erweitern die oben genannten Experimente insbesondere deshalb, weil mit Hilfe konventioneller Mikrokapillaren und K-ionensensitiver Mikroelektroden von sehr kleinem Spitzendurchmesser intrazelluläre Messungen des Membranpotentials und Membranwiderstandes von Metoneuronen und Bestimmungen der intrazellulären K-Konzentration unter der Einwirkung von Li durchgeführt wurden.

B) METHODIK

1. Froschpräparation

Als Versuchstiere dienten Wasserfrösche (Rana esculenta), die bei gleichbleibender Temperatur von 10°C im Wasserbekken gehalten wurden. Nach Dekapitierung des Tieres wurde die dorsale Leibeswand mit der anhängenden Wirbelsäule vom Froschkörper abgetrennt und in eine flache Präparierwanne eingelegt. In der Wanne befand sich eisgekühlte Standard-Ringerlösung folgender Elektrolytzusammensetzung: NaCl 98 mM, $NaHCO_3$ 12 mM, KCl 3,6 mM, $CaCl_2$ 2,0 mM mit 2 g/l Glucosezusatz. Die Lösung wurde ständig mit einem Gemisch aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 durchgast, so daß während der Präparation die Nährstoffversorgung des Rückenmarks sichergestellt war.

Unter der Kontrolle eines Operationsmikroskops wurde das durchschnittlich 5 cm lange Rückenmark schrittweise durch ventrale Laminektomie freigelegt. Nach Durchtrennung der cervicalen und thorakalen Nervenwurzeln zusammen mit den anhängenden Blutgefäßen konnte das Rückenmark in kraniokaudaler Richtung von den Wirbelbögen abgelöst werden. Die Vorder- und Hinterwurzeln (VR bzw. DR) der Lumbalsegmente waren dank ihrer besonderen Dicke und Länge für die elektrische Stimulation bzw. Ableitung während der Experimente geeignet. Zu diesem Zweck wurden sie möglichst weit peripher, kurz vor ihrer Vereinigung zum Spinalnerven durchschnitten. Damit war die Präparation des Rückenmarks nach etwa 30 Minuten abgeschlossen.

2. Ableitkammer und Vorbereitung des Präparats zur Ableitung

Die Grundlage der Ableitvorrichtung bildete ein wassergefüllter Plexiglasblock, in dessen Oberfläche eine längliche Vertiefung eingelassen war, um das Rückenmark aufzunehmen. Über eine Rollenpumpe wurde durch dieses Präparatbett ständig frische, auf 21° C temperierte Standard-Ringerlösung (2,5 ml/min) geleitet. Die Begasung der Badflüssigkeit mit einem Gemisch aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 sicherte die Sauerstoffversorgung des Rückenmarks und half zugleich, den pH-Wert zwischen 7,3 und 7,5 konstant zu halten. Von der Standard-Ringerlösung wurden für die meisten Li-Experimente 15 mM NaCl gegen eine äquivalente LiCl-Menge substituiert. Bei den Versuchen mit 5 mM LiCl konnte LiCl zur Standardlösung addiert werden. Die Vorratsgefäße für diese verschiedenen Badlösungen befanden sich im Wasserbad eines Kühlelements außerhalb des Faraday-Käfigs, welcher die Ableitkammer umgab. Durch Wechsel des Saughahnes von einem Vorratsgefäß zum anderen war es möglich, die Badlösungen auszutauschen, ohne den Ableitvorgang in der Kammer zu stören.

Das Rückenmark wurde so in die Ableitrinne eingelegt, daß der Seitenstrang zwischen den Vorder- und Hinterwurzeln einer Körperhälfte nach oben zeigte. Auf einer Gummimasse, welche den Boden der Rinne auskleidete, konnte das Präparat mit Stecknadeln fixiert und so gegen die Badströmung mechanisch stabilisiert werden. Um die Diffusion der Badlösung in das Gewebe zu beschleunigen, und um das Einstechen mit den Glaselektroden zu erleichtern, erfolgte nun mit Hilfe feiner Pinzetten unter mikroskopischer Kontrolle die Entfernung aller Rückenmarkshäute im Lumbalbereich zwischen den Vorder- und Hinterwurzeln.

Die Hinterwurzeln des 8. bis 10. Lumbalsegments einer Seite (Nomenklatur nach ECKER et al. 1899) wurden aus der Badrinne herausgehoben und zur elektrischen Stimulation jeweils auf zwei Silberdrähte aufgelegt. Da sich die Wurzeln außerhalb der Badflüssigkeit befanden, mußten sie zum Schutz gegen Austrocknung allseits mit Vaseline bedeckt werden.

Die zugehörigen Vorderwurzeln VR 9 und VR 10 wurden in die Spitzen von Glas-Saugelektroden eingezogen. Diese Elektroden ermöglichten die extrazelluläre Ableitung von den Vorderwurzeln über AC oder DC-gekoppelte Differenzverstärker. Auch konnte über sie eine antidrome Vorderwurzel-Stimulation durchgeführt werden.

Für die Erdung des Bades sorgte eine großflächige Ag/AgCl-Elektrode.

3. Ionensensitive Mikroelektroden

Das Hauptziel vieler Versuche war es, extra- und intrazellulär die K-Ionenkonzentration zu bestimmen, das Verhalten dieses Kations bei elektrischer Stimulation zu verfolgen und mögliche Änderungen der K-Ionenbewegungen unter Li-Einwirkung zu beobachten. Diese Messungen wurden mit Hilfe ionensensitiver Mikroelektroden durchgeführt. Im folgenden Abschnitt soll kurz der Bau, die Funktionsweise und die Eichung derartiger Elektroden beschrieben werden.

3.1 Bau ionensensitiver Mikroelektroden

Zur Herstellung der Elektroden wurden Borosilikat-Trennwandkapillaren mit einem Außendurchmesser von 2 bis 2,5 mm ver-

wendet. Ein vertikales Mikropipettenziehgerät fertigte aus diesen Glaskapillaren Mikropipetten mit einem Spitzendurchmesser unter 1 µm.

Um den Widerstand einer solchen doppelläufigen Mikropipette etwas zu erniedrigen und ihre Füllung zu erleichtern, wurde die Spitze in einigen Fällen unter mikroskopischer Kontrolle abgebrochen, und zwar für intrazelluläre Messungen auf etwa 1 µm, für extrazelluläre Messungen auf 2 µm im Durchmesser. Da sich infolge der Luftfeuchtigkeit leicht Wasserdampf-Niederschläge an den Kapillarwänden bildeten, war zur Reinigung der Pipettenspitze eine zehn-minütige "Backzeit" der Spitze in einer horizontalen Heizspirale erforderlich.

Nach dem Vorheizen fand die Füllung des für die sensitive Elektrodenseite vorgesehenen Kanals mit einem Tropfen Hexamethyldisilazane (Sigma) statt, um die Kanalspitze hydrophob und mit dem lipophilen Austauscher füllbar zu machen. 20 Minuten dauerte der anschließende Silanisierungsprozeß in der Heizspirale. Während dieser Zeit wurde der Referenzkanal über einen dünnen Plastikschlauch selektiv mit N_2 durchgast und war auf diese Weise vor dem Übertritt von Silan über die Pipettenspitze geschützt.

Auf die Silanisierung folgte die Füllung der Mikropipette mit Hilfe der Microforge. Der Referenzkanal erhielt eine 1 molare Mg-Azetat-Lösung. In die Spitze der sensitiven Seite wurde der K-ionensensitive Austauscher eingebracht. Der restliche Teil des Kanals mußte mit einer inneren Referenzlösung aufgefüllt werden, welche ein Salz des zu messenden Ions enthielt (200 mM KCl). Feine Katzenhaare halfen, eventuell vorhandene Luftblasen zu entfernen.

Mit dem Einsatz je eines chlorierten Silberdrahtes in die Kanäle und ihrem luftdichten Abschluß wurde die Mikropipette zur ionensensitiven Elektrode vervollständigt.

3.2 Funktionsweise ionensensitiver Mikroelektroden

Zum besseren Verständnis soll an dieser Stelle das Funktionsprinzip einer ionensensitiven Mikroelektrode in vereinfachter Form erläutert werden.
Der klassische Flüssigaustauscher einer Mikroelektrode besteht nach OEHME (1977) meist aus einem relativ wasserunlöslichen organischen Lösungsmittel, das einen lipophilen, geladenen Liganden enthält. Dieser bildet bewegliche Ionenaustauschzentren, an die sich entgegengesetzt geladene organische Ionen binden. Die Stärke der Interaktion zwischen dem organischen Elektrolyt und dem anorganischen Ion bestimme zusammen mit der Extraktionsfähigkeit des organischen Lösungsmittels für die Ionen in der Analysenlösung die Selektivität des Austauschers.

Somit ist der Flüssigaustauscher im Prinzip mit einer semipermeablen Membran vergleichbar, welche im Idealfall nur für ein bestimmtes Ion durchlässig ist. Die eine Seite dieser Flüssigmembran steht mit einer inneren Referenzlösung konstanter Zusammensetzung in Kontakt, während die andere Seite über die Elektrodenspitze mit der Analysenlösung in Berührung kommt.

Die Abbildung 1 zeigt ein Schema dieser Meßkette und ihre praktische Anwendung. Die Meßelektrode taucht in das Meßgut ein, während die Referenzelektrode über die Badlösung mit ihr in Verbindung steht. Dem Meßgut entsprachen in den vorliegenden Experimenten extra- oder intrazelluläre Flüssigkeitsräume des Rückenmarks mit der zu bestimmenden Akti-

vität a_i des Ions I^{zi}. Zur besseren Übersichtlichkeit ist in der Abbildung nur der ionensensitive Kanal der im Experiment eingesetzten doppelläufigen Mikroelektrode dargestellt.

Ändert sich die Konzentration der frei beweglichen Ionen I^{zi} in dem Meßgut, so entsteht eine Änderung der Potentialdifferenz über der Flüssigmembran, welche über die innere Referenzlösung auf die Ag/AgCl-Elektrode übertragen wird. Dadurch wird ein geringer Stromfluß zwischen der inneren Referenzelektrode und der Referenzelektrode in der Außenlösung induziert. Ein Voltmeter registriert die zugehörige Spannungsänderung (EMK) in der Meßkette.

Die der jeweiligen Ionenaktivität entsprechende Potentialdifferenz zwischen den Elektroden läßt sich auch nach der sogenannten Nikolsky-Gleichung rechnerisch ermitteln. In diese Gleichung gehen die Aktivitäten eventuell vorhandener Störionen und die Empfindlichkeit des Austauschers für diese Ionen, d.h. seine Selektivitätskonstante, mit ein.

Nikolsky-Gleichung (modifiziert nach WALKER, 1971):

$$E = E_o + S \log_e (a_i + K_{ij} a_j^{z_i/z_j})$$

E = elektrisches Potential (in Volt)

E_o = konstantes Bezugspotential (Volt)

S entspricht im Idealfall $\frac{R \cdot T}{z_i \cdot F}$ und gibt die Steilheit der Elektrodenfunktion wieder

R = Gaskonstante (8,3 Joule · Grad^{-1})

T = absolute Temperatur (° K)

F = Faraday-Konstante (96.500 Coulomb)

a_i = Aktivität des zu messenden Ions I^{zi}

a_j = Aktivität des Störions I^{zj}

K_{ij} = Selektivitätskonstante, d.h. Maß für die Bevorzugung des Ions I^{zj} gegenüber dem Ion I^{zi}

z_i, z_j = Valenz des Ions I^{zi} bzw. I^{zj}

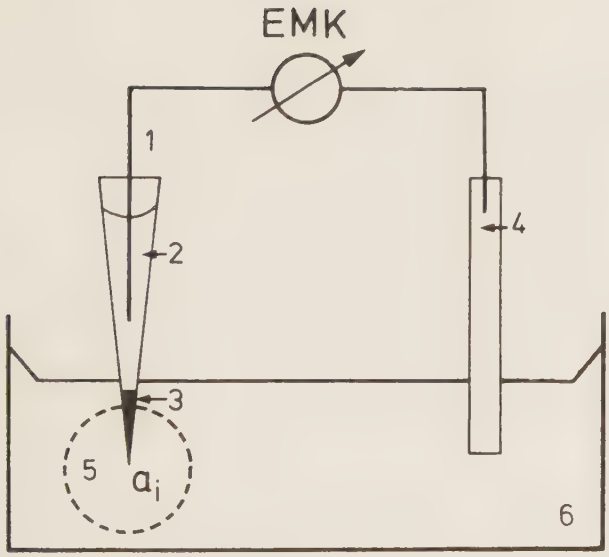

Abb. 1: Messung mit einer ionensensitiven Mikroelektrode; Schema der Meßkette

EMK : elektromotorische Kraft (Potentialdifferenz innerhalb der Meßkette)
1 : innere Referenzelektrode aus Ag/AgCl
2 : innere Referenzlösung
3 : ionensensitiver Flüssigaustauscher
1+2+3 : Grundbestandteile der ionensensitiven Meßelektrode
4 : Referenzelektrode aus Ag/AgCl in der Außenlösung
5 : Meßgut mit der zu bestimmenden Ionenaktivität a_i
6 : Badlösung

Nähere Erklärung siehe Text.

3.3 Eichung der K-sensitiven Mikroelektrode

An dieser Stelle muß darauf hingewiesen werden, daß die Elektroden strenggenommen keine Ionenkonzentrationen messen, sondern nur auf Aktivitäten reagieren, d.h. auf den Teil der Ionen, welche frei beweglich sind. Dennoch erscheint es nach THOMAS (1978) zulässig, im weiteren Verlauf dieser Arbeit vereinfachend von Konzentrationen zu sprechen. THOMAS argumentiert, daß im Ringer und in den Kalibrierungslösungen die Ionenkonzentrationen bekannt seien, und infolgedessen die freien Ionenkonzentrationen im Gewebe berechnet werden könnten unter der Annahme gleicher Aktivitätskoeffizienten im Intra- und Extrazellulärraum.

Die K-sensitiven Mikroelektroden (K-ISME) waren mit dem Corning-Austauscher Nr. 47 73 17 gefüllt, welcher nach OEHME (1977) eine Selektivität für K gegenüber Na von etwa 50 : 1 besitzt.
Die Elektroden wurden in Testlösungen mit folgenden Ionenkonzentrationen (in mM) geeicht: a) 3 K, 150 Na; b) 12 K, 150 Na und c) 60 K, 150 Na. Die Spannungsänderungen zwischen diesen Konzentrationen wurden mit Hilfe eines Computerprogramms basierend auf der Nikolsky-Gleichung ausgewertet. Dies ergab für jede Elektrode die Steilheit S der Elektrodenfunktion (52 bis 58 mV/10fache K^+-Konzentrationsänderung) und den Selektivitätsfaktor $K_{K,Na}$. Nach Einsetzen dieser Größen in die Nikolsky-Gleichung konnten die im Experiment mit der K-ISME gemessenen Spannungsänderungen in K^+-Konzentrationsänderungen umgerechnet werden.

4. Ableittechnik

Abbildung 2 gibt in einer vereinfachten Schemazeichnung die Anordnung der wichtigsten Meßgeräte für die intra- und extrazelluläre Ableitung neuronaler Potentialänderungen und für die Bestimmung der K-Konzentrationen wieder.

Ein Schaltgerät zur wahlweisen Stimulation und Ableitung ermöglichte es, je nach experimenteller Fragestellung an den Vorder- oder Hinterwurzeln des isolierten Froschrückenmarks elektrische Impulse auszulösen oder Potentiale abzuleiten. Dies geschah an den Hinterwurzeln über zwei Silberdrähte, auf welche die Wurzeln aufgelegt wurden, und an den Vorderwurzeln über Saugelektroden. Die registrierten Potentiale wurden auf dem Bildschirm eines Oszillographen sichtbar gemacht und kontinuierlich von einem Schreiber aufgezeichnet. Bei der sogenannten AC-gekoppelten Ableittechnik (AC = alternative current) wurden im Gegensatz zu den DC-Ableitungen (DC = direct current) langsame Potentialschwankungen unterhalb einer bestimmten Frequenz durch die Wahl entsprechender Filter nicht erfaßt.

Mit Hilfe doppelläufiger ionensensitiver Mikroelektroden war es möglich, intra- und extrazellulär die K-Ionenkonzentration zu verfolgen. Da der ionensensitive Kanal dieser Mikroelektroden in der Regel einen Widerstand von 10^9 bis 10^{10} Ohm besaß, konnte er zur Potentialmessung nicht direkt mit dem Oszillographen oder mit dem Schreiber verbunden werden. Denn diese Geräte haben einen vergleichsweise niedrigen Eingangswiderstand, so daß eine direkte Einschaltung in die Meßkette der ionensensitiven Elektrode einem Kurzschluß gleichgekommen wäre. Daher mußte zwischen ionensensitive Elektrode und Spannungsmeßgerät (Oszillograph oder Schreiber) ein sogenannter Impedanzwand-

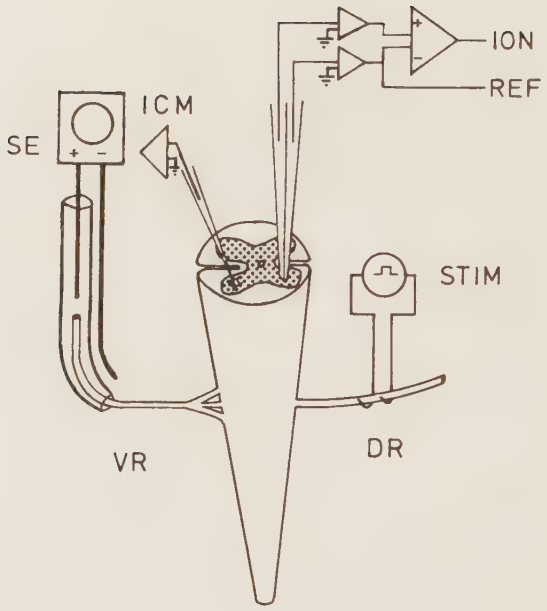

Abb. 2: Vereinfachtes Schema der Versuchsanordnung

VR = Vorderwurzel,
DR = Hinterwurzel eines Lumbalsegments des isolierten Froschrückenmarks
STIM = Stimulationsgerät
SE = Saugelektrode zur extrazellulären Potentialableitung und Stimulation
ICM = intrazelläre, konventionelle Mikroelektrode
ION = Differenzsignal der intra- oder extrazellulär positionierten ionensensitiven Mikroelektrode
REF = Referenzsignal der ionensensitiven Mikroelektrode

Ausführliche Beschreibung der Versuchsanordnung im Text.

ler oder Operationsverstärker geschaltet werden (siehe auch das Kapitel 9 "Apparatus for Testing and Using Ion-sensitive Microelectrodes" in THOMAS, 1978). Auch das Signal des etwas niederohmigeren Referenzkanals (1 MOhm bis 10 MOhm) wurde dem Eingang eines solchen Operationsverstärkers zugeführt.

Beide Impedanzwandler waren zusätzlich mit einem Rückkopplungskondensator zur Kapazitätskompensation ausgerüstet. Eine Kapazitätskompensation war erforderlich, da die Elektrodenkanäle beträchtliche Zeitkonstanten aufwiesen, weshalb ein angelegter Rechteckpuls erst mit einiger Verzögerung in seinem Maximalwert von den Elektroden registriert wurde. Ohne Kapazitätsausgleich wäre daher die unverfälschte Wiedergabe rascher Potentialänderungen über die Elektroden nicht möglich gewesen.

Der zweite Eingang der Impedanzwandler war jeweils über die Erde mit der Badelektrode verbunden. Die Badelektrode, eine großflächige Ag/AgCl-Elektrode, bildete die gemeinsame Referenz für die ionensensitive Elektrode und für den Referenzkanal. Über ein Kalibrierungsgerät zur Erzeugung von Gleichstrom-Impulsen war die Badelektrode geerdet.

Sowohl der Referenzkanal als auch der ionensensitive Kanal einer doppelläufigen Mikroelektrode reagieren auf Spannungsänderungen im Meßgut, im vorliegenden Fall beispielsweise auf Membranpotentialänderungen einer Nervenzelle. Daher wurde vor dem Eingang zum Schreiber das Potential der Referenzelektrode von dem Potential der ionensensitiven Elektrode mittels eines Differenzverstärkers abgezogen. Auf diese Weise konnte das reine Ionensignal gewonnen und von dem Schreiber oder von einem Oszillographen abgelesen werden. Das Ausgangssignal des Referenzkanals wurde getrennt verstärkt und von dem Schreiber registriert.

Abgleich des Verstärkers der ionensensitiven Mikroelektrode (ISME)

Im Idealfall sollte das Potential am Ausgang des Differenzverstärkers ein reines Ionensignal darstellen und von Spannungsänderungen im Bad oder an der Zellmembran unbeeinflußt bleiben. Falls jedoch zwischen Referenzkanal und sensitivem Kanal Subtraktionsfehler auftreten, könnte ein derartiges Subtraktionsartefakt am Differenzsignal mit einer Ionenkonzentrationsänderung verwechselt werden. Um solche Fehler auszuschließen, wurde gelegentlich im Laufe eines Experiments eine Gleichspannung von 50 mV über den erwähnten Calibrator zwischen Badelektrode und Erde angelegt (siehe DC-Balken in Abb. 14). Bei optimaler Subtraktion gab die Referenzspur des Schreibers diese Spannungsänderung vollständig wieder, während die Differenzspur nur beim An- und Abschalten des DC-Pulses kurzzeitig (kapazitiv) von ihrer Grundlinie abgelenkt wurde. Eine Abweichung von diesem Verhalten konnte durch ein "Gain-adjustment" des ISME-Verstärkers ausgeglichen werden.

5. Aufsuchen von Motoneuronen

Je nach Versuchsziel wurden intrazelluläre Ableitungen aus Motoneuronen mit doppelläufigen, ionensensitiven oder mit konventionellen, KCl-gefüllten Mikroelektroden vorgenommen. Die Elektroden mußten einen Spitzendurchmesser von weniger als 1 µm aufweisen, um beim Einstich in die Motoneurone mit einem Somadurchmesser von etwa 50 µm deren Zellmembran nicht zu stark zu verletzen.

Die Elektrode ließ sich per Hand grob über dem Motoneuronengebiet in Vorderhorn-Nähe des 9. oder 10. Lumbalsegments

positionieren. Mit Hilfe eines ferngesteuerten Mikromanipulators wurde sie dann ins Rückenmark eingefahren. Regelmäßige Stimulation der Vorderwurzel (2 Hz, 2 V, 0,1 ms) erzeugte antidrom in die Somata der Motoneurone fortgeleitete Aktionspotentiale. Diese wurden von der Elektrode nach dem Einstich ins Gewebe extrazellulär registriert und auf einem Oszillographen sichtbar gemacht. Die Größe und Form der Feldpotentiale gab Auskunft über die Nähe der Elektrode zum Motoneuronenpool, welcher sich in der Regel in 300 bis 500 µm Tiefe befand. In Einzelschritten von 4 µm wurde die Elektrode ins Gewebe vorgeschoben, bis ein plötzlicher Potentialsprung am Oszillographen das negative Membranpotential einer Zelle, d.h. einen Zelleinstich anzeigte. Durch das Erscheinen eines Aktionspotentials bei antidromer Stimulation ließ sich eine Zelle als Motoneuron identifizieren.

6. Membranwiderstands-Messungen

Um festzustellen, ob unter bestimmten Stimulationsbedingungen oder bei Variation der Badlösung eine Änderung der Membranleitfähigkeit eines Motoneurons auftrat, wurden Gleichstrompulse zwischen der Meßelektrode in der Zelle und der Referenzelektrode im Bad angelegt. Diese Strompulse erzeugten nach dem Ohm'schen Gesetz sowohl am Widerstand der Elektrode als auch am Membranwiderstand einen Spannungsabfall, welchen die Elektrode registrierte. Um den reinen Spannungsabfall an der Zellmembran zu erhalten, wurde über eine Wheatstone'sche Brückenschaltung der Spannungsabfall am Elektrodenwiderstand auf Null abgeglichen. Somit konnte aus der Amplitude des Spannungsabfalls, den ein hyperpolarisierender Strompuls an der Zellmembran erzeugte, auf den Widerstand der Membran geschlossen werden. Je größer der Spannungsabfall bei gleichem Strompuls war, um so höher war der Membranwiderstand bzw. um so geringer war die Membranleitfähigkeit.

C) ERGEBNISSE

1. Li-Wirkung auf spinale Motoneurone

1.1 Li-Wirkung auf die Motoneuronenmembran

1.1.1 Membranpotential

Das Membranpotential von Motoneuronen in einem Lumbalsegment des Froschrückenmarks konnte intrazellulär mittels einer konventionellen Mikroelektrode abgeleitet werden. Sobald sich das Membranpotential nach dem Zelleinstich stabilisiert hatte, wurde die Standard-Badlösung gegen eine Li-haltige Ringerlösung ausgewechselt.

Bei Superfusion mit einer Ringerlösung, welche 15 mM LiCl im Austausch gegen eine äquimolare NaCl-Menge enthielt, ließ sich schon nach zwei- bis dreiminütiger Applikationszeit eine Depolarisation des Ruhemembranpotentials erkennen. Nach Depolarisation des Membranpotentials um 2 bis 3 mV schien ein neues Gleichgewicht erreicht zu sein. Beispiele für diesen unter 15 mM LiCl regelmäßig beobachteten Effekt sind in den Abbildungen 3, 4 und 6 dargestellt. In der Li-Auswaschphase repolarisierte das Membranpotential wieder. Gelegentlich konnte dann sogar eine leichte, das Membranpotential vor Li-Gabe unterschreitende, Hyperpolarisation registriert werden (siehe Abbildung 4).

Bei Addition von 5 mmol/l LiCl ließ sich keine Änderung des Membranpotentials feststellen.

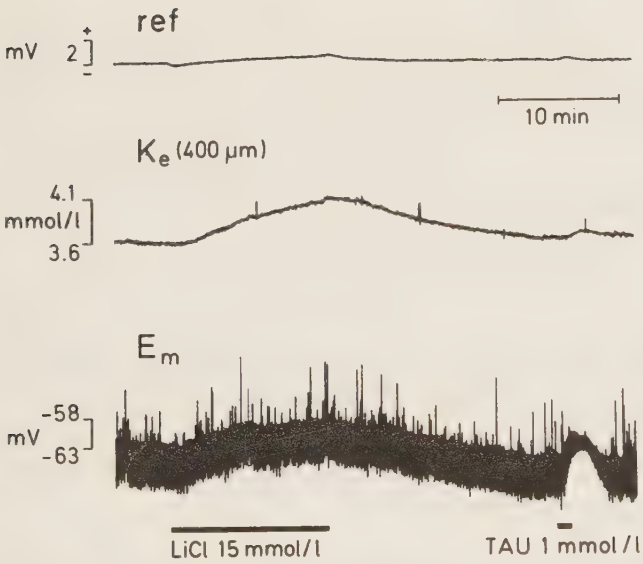

Abb. 3: Li-Wirkung auf das extrazelluläre Kalium (K_e), das Membranpotential (E_m) und den Membranwiderstand eines Motoneurons

Oben: Ableitung des Referenzkanals einer K-sensitiven Mikroelektrode (K-ISME), die sich 400 µm unter der Rückenmarksoberfläche befand.

Mitte: K-Signal der K-ISME

Unten: Intrazelluläre E_m-Ableitung aus einem Motoneuron. Die E_m-Abweichungen nach unten wurden durch konstante hyperpolarisierende Strominjektionen (Frequenz 0,2 Hz) in die Zelle erzeugt. Die raschen E_m-Abweichungen nach oben beruhten auf spontaner synaptischer Aktivität.

Unter der Wirkung von 15 mM LiCl erfolgte ein Anstieg von K_e und eine Membrandepolarisation des Motoneurons bei unverändertem Membranwiderstand. Im Unterschied dazu setzte eine kurzzeitige Applikation von Taurin (TAU) in die Badlösung den Membranwiderstand deutlich herab.

Näheres siehe im Text.

1.1.2 Membranwiderstand

Aus Abbildung 3 wird ersichtlich, daß die oben beschriebene Membrandepolarisation nicht durch eine Änderung der Membranleitfähigkeit unter Li bedingt sein konnte. Denn ein regelmäßig in die Zelle injizierter hyperpolarisierender Strompuls erzeugte unabhängig von der Depolarisationsphase immer denselben Spannungsabfall an der Membran. Um die Empfindlichkeit dieser Membranwiderstandsmessung zu überprüfen, wurde für kurze Zeit Taurin (TAU) der Badlösung zugesetzt. TAU ist bekanntlich ein inhibitorisch wirkender Transmitter, der vor allem die Membranleitfähigkeit für Chloridionen erhöht (siehe SONNHOF et al. 1975). Entsprechend erfolgte unter dem Einfluß von TAU eine typische Abnahme des Membranwiderstandes, sichtbar an der verminderten hyperpolarisierenden Wirkung des Strompulses.

Die gleichzeitige depolarisierende Wirkung von TAU in der Abbildung 3 ist darauf zurückzuführen, daß bei dem relativ hohen Membranpotential von 60 mV das Gleichgewichtspotential für Cl^--Ionen (E_{Cl^-}) bei einem positiveren Wert liegt. Daher strömen unter der Wirkung von TAU die Cl^--Ionen in Annäherung an E_{Cl^-} aus der Zelle aus, was sich als Membrandepolarisation bemerkbar macht.

1.1.3 Aktionspotentialamplitude

Parallel zu der Li-induzierten Membrandepolarisation war die Amplitude des durch Einzelreiz an der Hinterwurzel ausgelösten Aktionspotentials in Gegenwart von 15 mM LiCl in der Badlösung vermindert.

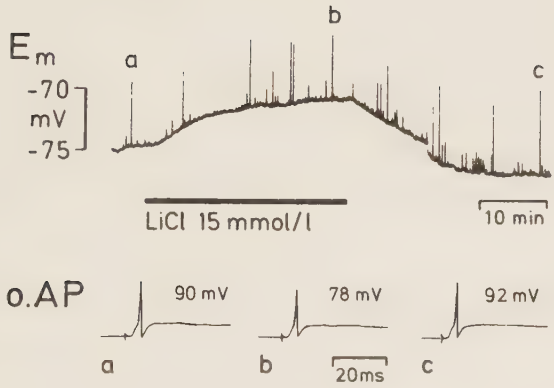

Abb. 4: Li-Wirkung auf die Aktionspotentialamplitude

Oben: intrazelluläre Ableitung des Membranpotentials (E_m) aus einem Motoneuron. Bei a, b und c wurde jeweils ein orthodromer Einzelreiz an einer lumbalen Hinterwurzel (DR) gesetzt. Die Li-Applikation bewirkte eine Membrandepolarisation.

Unten: in schnellerer Zeitschreibung Darstellung der intrazellulär abgeleiteten, orthodromen Aktionspotentiale (o.AP).

Während der Li-Applikation (b) war die Amplitude des o.AP im Vergleich zur Kontrolle (a) deutlich vermindert. In der Li-Auswaschphase zeigte sich parallel zum Wiederanstieg des Membranpotentials eine Zunahme der o.AP-Amplitude (c).

In Abbildung 4 sind die vor (a), während (b) und nach (c) der Li-Applikation intrazellulär aus einem Motoneuron abgeleiteten Aktionspotentiale einander gegenübergestellt. Auf dem Höhepunkt der Membrandepolarisation des Motoneurons war die Amplitude des orthodromen Aktionspotentials im Vergleich zur Kontrolle (a) deutlich reduziert. In der Li-Auswaschphase wurde zugleich mit einer leichten Membranhyperpolarisation auch eine geringe Zunahme der Aktionspotentialamplitude über den Ausgangswert hinaus registriert (siehe auch Abb. 14).

Messungen mit 5 mM LiCl führten noch nicht zu einer Abnahme der Aktionspotentialamplitude.

1.2 Li-Wirkung auf spinale Motoneurone bei repetitiver DR-Stimulation

1.2.1 Verhalten des Membranpotentials, des extra- und intrazellulären Kaliums bei repetitiver Stimulation unter Normalbedingungen

In Abbildung 5 sind die Veränderungen am Membranpotential eines Motoneurons und am extrazellulären Kalium (K_e) nach Stimulation an der Hinterwurzel des entsprechenden Rückenmarksegments illustriert. Das Verhalten des intrazellulären Kaliums (K_i) unter diesen Bedingungen verdeutlicht Abbildung 6.

Während der repetitiven Stimulation wurde das Motoneuron stark depolarisiert. Zur Darstellung der einzelnen Aktionspotentiale, die der Membrandepolarisation aufsaßen, war die Reaktion des Schreibers zu träge. Die Spikes konnten jedoch

am Kathodenstrahloszillographen verfolgt und von ihm abfotografiert werden. Beispiele für diese, zu Beginn der repetitiven Stimulation abgeleiteten, orthodromen Aktionspotentiale sind in den Insets der Abbildungen 5 und 6 dargestellt.

Nach Beendigung der Stimulation folgte häufig noch eine weitere Depolarisation der Membran, sichtbar an der zwei-gipfeligen E_m-Ableitung in Abbildung 5. Dieser 2. Gipfel läßt sich nach SYKOVA und ORKAND (1980) durch die extrazelluläre Kaliumkonzentrationserhöhung und die gesteigerte Spontanaktivität in dieser Phase erklären. Nach Erreichen des Gipfels repolarisierte das Membranpotential rasch und schoß in hyperpolarisierender Richtung über das Ruhepotential hinaus. Dieses typische Verhalten wird als posttetanische Hyperpolarisation (PTH) bezeichnet. Bei der nun folgenden Rückkehr des Membranpotentials zum Ausgangswert war gelegentlich eine geringe Nachdepolarisation zu erkennen.

Parallel zu der Membrandepolarisation stieg das K_e im Motoneuronenpool von seinem Ruhewert von 3,6 mM auf über 7 mM an und begann zugleich mit der Depolarisation des Motoneurons wieder abzufallen, jedoch mit einer etwas anderen Kinetik. Zum Zeitpunkt der maximalen posttetanischen Hyperpolarisation war das K_e seinem Ausgangswert gegenüber regelmäßig noch deutlich erhöht.

Im Vergleich zu der relativ raschen K_e-Kinetik zeigte die Änderung des K_i unter der repetitiven Stimulation einen deutlich trägeren Verlauf. Zum Zeitpunkt des Maximums der PTH hatte der K_i-Abfall erst mit einer Differenz von 3 mM seinen Endwert erreicht. Die folgende K_i-Erholungsphase nahm sehr viel mehr Zeit in Anspruch als die Normalisierung des K_e und des Membranpotentials.

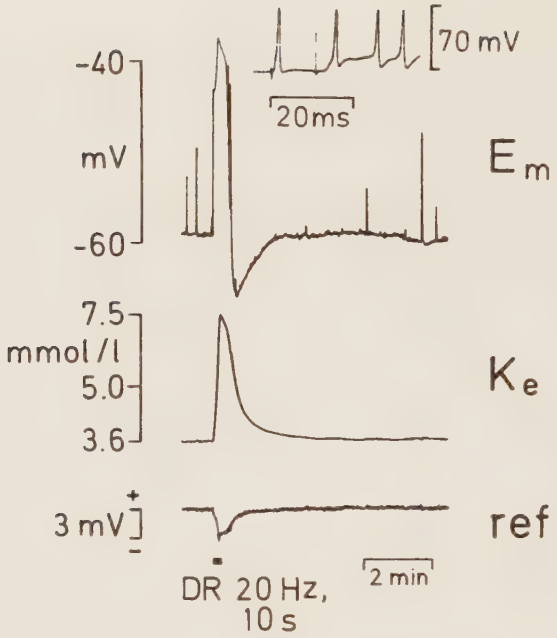

Abb. 5: Membranpotential (E_m) und extrazelluläres Kalium (K_e) bei repetitiver DR-Stimulation

E_m: das intrazellulär abgeleitete Membranpotential reagierte mit einer starken Depolarisation auf die repetitive DR-Stimulation. Nach Reizende setzte rasch die Repolarisation ein, welche in die posttetanische Hyperpolarisation (PTH) überging.
Der Einschub zeigt die intrazelluläre Ableitung eines antidromen Aktionspotentials und darauf folgend die orthodrome Reflexantwort zu Beginn der repetitiven Stimulation.

K_e: extrazelluläre Registrierung der K_e-Kinetik mit einer K-sensitiven Mikroelektrode (K-ISME) im Motoneuronenpool. In der Erholungsphase nach Reizende war K_e zum Zeitpunkt des PTH-Maximums noch deutlich erhöht.

ref: Ableitung des Referenzkanals der extrazellulären K-ISME.

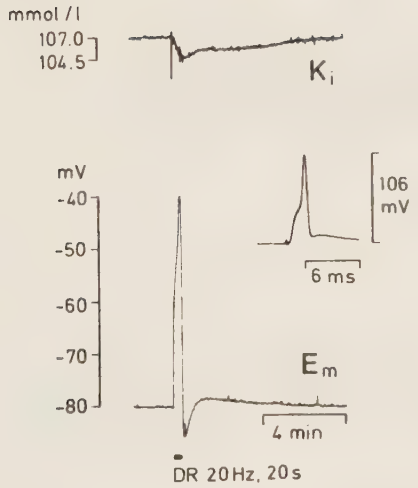

Abb. 6: Verhalten des intrazellulären Kaliums (K_i) während repetitiver Stimulation

Die K-sensitive Mikroelektrode (K-ISME) befand sich in einem Motoneuron, dessen Membranpotential (E_m) vom Referenzkanal der K-ISME registriert wurde.
Die repetitive DR-Stimulation führte zu einem Abfall des K_i, dessen Minimalwert etwa zum Zeitpunkt des Maximums der posttetanischen Hyperpolarisation (PTH) erreicht war. Erst längere Zeit nach Normalisierung von E_m hatte auch K_i seinen Ausgangswert wieder erreicht.
Der Einschub zeigt die intrazelluläre Ableitung eines orthodromen Aktionspotentials zu Beginn der DR-Stimulation.

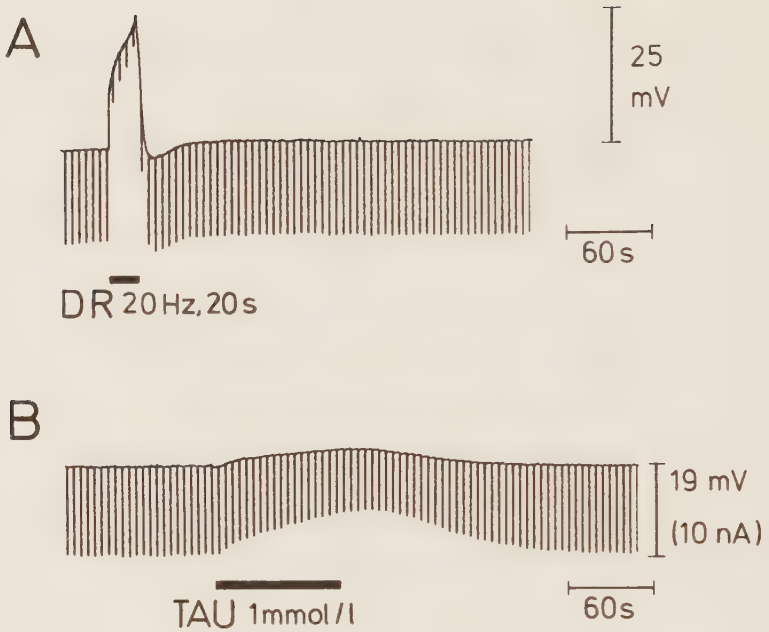

Abb. 8: Membranleitfähigkeitsmessung in der posttetanischen Hyperpolarisationsphase (PTH)

Das Membranpotential des Motoneurons wurde intrazellulär mittels einer KCl-gefüllten Glaselektrode abgeleitet. Mit einer Frequenz von 0,2 Hz wurden konstante hyperpolarisierende Strompulse in die Zelle injiziert.

A: Die Amplitude des Spannungsabfalls, den diese Strompulse an der Zellmembran erzeugten, blieb auch in der PTH-Phase konstant. Daher scheint die Membranleitfähigkeit in der PTH-Phase unverändert zu sein.

B: Zur Kontrolle wurde Taurin (TAU) der Superfusionslösung kurzzeitig zugesetzt. Unter der Wirkung von TAU, welches die Membranleitfähgikeit für Cl-Ionen erhöht, war der Membranwiderstand deutlich reduziert, sichtbar an der verminderten Amplitude der hyperpolarisierenden Membranpotentialablenkung.

Fast spiegelbildlich zu dieser trägen K_i-Kinetik während der repetitiven Stimulation verhielt sich nach den Messungen von GRAFE et al. (1982a) unter denselben Versuchsbedingungen der Anstieg des intrazellulären Natriums (Na_i).

1.2.2 Membranwiderstand in der PTH-Phase

Wie Abbildung 8 anhand der konstanten Membranwirkung des hyperpolarisierenden Strompulses beweist, war in der PTH-Phase keine Änderung des Membranwiderstandes meßbar. Daher erscheint es unwahrscheinlich, daß die PTH auf einer Erhöhung der Membranleitfähigkeit für K oder für andere Ionen beruhen könnte.

1.2.3 Ouabain-Wirkung auf die PTH

Wurde die repetitive DR-Stimulation in Gegenwart von Ouabain in der Badlösung ausgeführt, so war die Repolarisation des Membranpotentials deutlich verzögert und der Übergang in die PTH-Phase fehlte vollständig. Abbildung 9 illustriert diesen Ouabain-Effekt auf das Membranpotential nach repetitiver Stimulation. Zugleich läßt sich eine geringe Depolarisation des Ruhemembranpotentials unter Ouabain erkennen.

Aus der Tatsache, daß Ouabain, ein bekannter Blocker der Na-K-Pumpe, eine Hemmung der PTH-Phase bewirkte, und daraus, daß sich die Membranleitfähigkeit in dieser Phase als konstant erwies, kann man auf einen elektrogenen Pumpenmechanismus als Grundlage der PTH schließen. Eine ausführliche Begründung dieser Theorie wird in der Diskussion erfolgen.

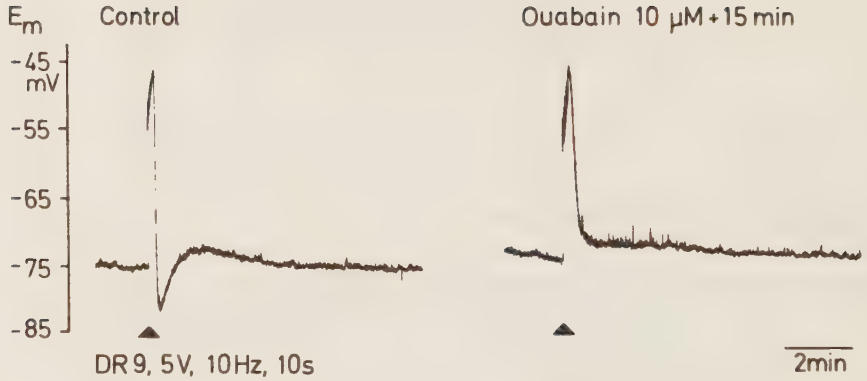

Abb. 9: Wirkung von Ouabain auf das Ruhemembranpotential und die PTH-Phase eines Motoneurons

Das Membranpotential (E_m) wurde intrazellulär über eine KCl-gefüllte Glaselektrode aus einem Motoneuron abgeleitet.

Links: Unter normalen Bedingungen wies das E_m nach tetanischer DR-Stimulation die typische PTH-Phase auf.

Rechts: 15 min nach dem Wechsel zur Ouabain-haltigen Ringerlösung war die Repolarisation des E_m nach der repetitiven Stimulation deutlich verlangsamt. Die PTH-Phase war vollständig blockiert. Zugleich bewirkte Ouabain eine geringe Depolarisation des Ruhemembranpotentials.

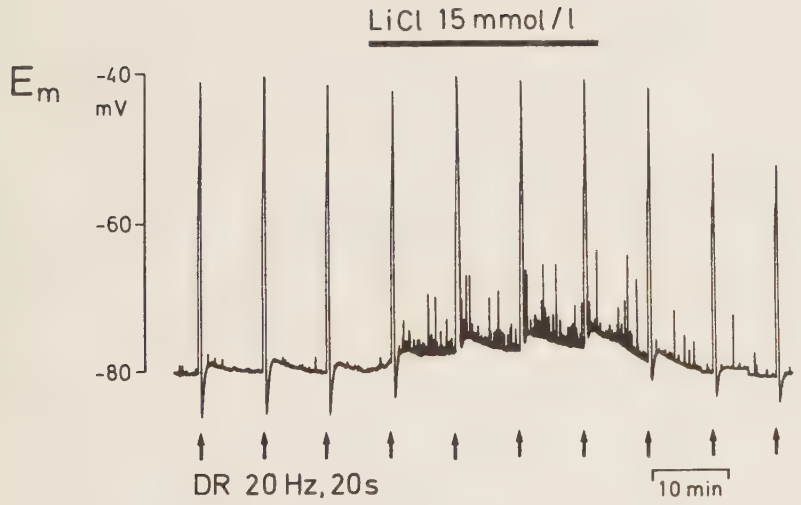

Abb. 10: Li-Wirkung auf die posttetanische Hyperpolarisation (PTH)

Das Membranpotential (E_m) eines Motoneurons wurde mittels einer intrazellulären Mikroelektrode abgeleitet. Die Pfeile kennzeichnen jeweils den Zeitpunkt einer repetitiven Hinterwurzel-Stimulation, welche in 8-minütigen Abständen erfolgte.

Während der Li-Applikation zeigte sich eine Depolarisation des Ruhemembranpotentials und eine Steigerung der spontanen synaptischen Aktivität. Schon 10 Minuten nach Beginn der Li-Gabe war die PTH vollständig blockiert.

1.2.4 Li-Wirkung auf die PTH

Ähnlich wie unter Ouabain fehlte die PTH auch kurze Zeit nach Beginn der Superfusion des Rückenmarks mit 15 mmolarem Li-Ringer. Abbildung 10 illustriert die rasche Abnahme der PTH-Amplitude bis zur vollständigen Blockade unter Li und die Reversibilität dieses Li-Effekts in der Auswaschphase.

Zugleich läßt die Abbildung eine Membrandepolarisation und eine Zunahme der Spontanaktivität in Gegenwart von Li erkennen.

2. Wechselwirkung zwischen Li und K

2.1 Li-Wirkung auf das extrazelluläre K (K_e)

2.1.1 Li-Wirkung auf die K_e-Basis

Mittels einer K-sensitiven Mikroelektrode, die extrazellulär nahe des Motoneuronenpools im Rückenmark positioniert war, konnte das Verhalten der K_e-Basiskonzentration in Gegenwart von Li verfolgt werden. Etwa zwei Minuten nach Addition von 5 mM Li zur Ringerlösung registrierte die Elektrode einen kontinuierlichen K_e-Anstieg. Ausgehend von 3,6 mM entsprechend dem K-Gehalt der Badlösung erreichte K_e unter der Wirkung von 5 mM Li bei 3,8 mM einen neuen Gleichgewichtszustand, wie Abbildung 11 illustriert. Abbildung 3 zeigt ein Beispiel für den K_e-Anstieg von 3,6 auf 4,1 mM in Gegenwart von 15 mM Li.

Ein ähnlicher K_e-Anstieg war auch unter Ouabain-Wirkung im Rückenmark zu beobachten.

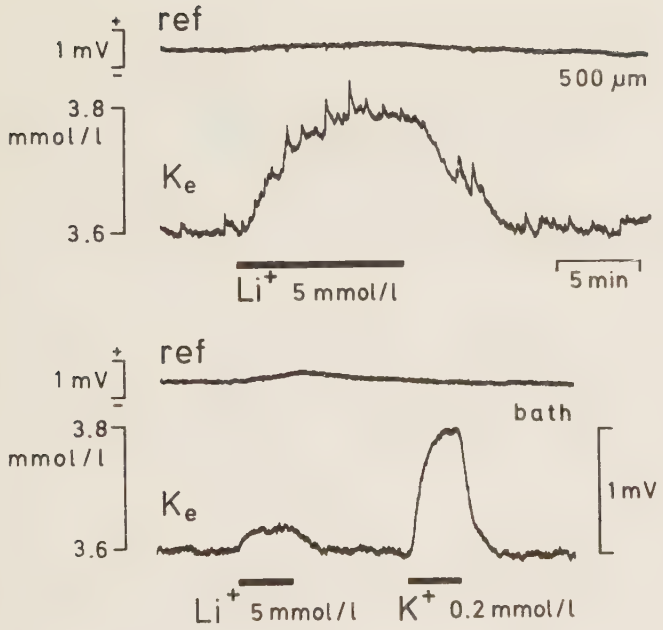

Abb. 11: Wirkung von 5 mM Li auf das extrazelluläre Kalium (K_e)

Oben: Verhalten der K_e-Basis 500 µm unter der Rückenmarksoberfläche in Anwesenheit von 5 mM LiCl in der Badlösung. In der ersten Zeile ist die Ableitung des Referenzkanals der K-sensitiven Mikroelektrode (K-ISME) dargestellt.

Unten: Eichung der K-ISME in der Badlösung: die Addition von 5 mM LiCl zur Ringerlösung bewirkte ein geringes Elektrodenartefakt. Auf eine Erhöhung der K-Badkonzentration um 0,2 mM reagierte die Elektrode mit einer ähnlichen Potentialänderung wie im Gewebe.

2.1.2 Zusammenhang zwischen Li, K_e und Spontanaktivität

Die Li-Applikation bewirkte nicht nur regelmäßig einen K_e-Anstieg im Rückenmark, sondern führte in der Anfangsphase häufig auch zu einer Steigerung der spontanen synaptischen Aktivität. Die intrazellulären Potentialableitungen aus Motoneuronen in Abbildung 10 demonstrieren diesen Li-Effekt auf die Spontanaktivität.

Da jede starke synaptische Aktivität durch den K-Ausstrom aus den Zellen mit einem K_e-Anstieg verbunden ist, mußte im folgenden Experiment untersucht werden, ob der unter Li beobachtete K_e-Anstieg eine primäre Li-Wirkung darstellte, oder ob er sekundär durch die zugleich erhöhte Spontanaktivität bedingt war.

Das experimentelle Vorgehen zur Klärung dieser Frage illustriert die Abbildung 12. Die Spontanaktivität wurde in diesem Versuch AC-gekoppelt mit Saugelektroden von den Hinterwurzeln abgeleitet. Über die Entstehung der spontanen Impulse im Rückenmark lassen sich mehrere Theorien aufstellen. Zum einen könnte es sich um Verletzungspotentiale handeln, die an der Durchtrennungsstelle der Hinterwurzeln entstehen. Zum anderen könnten auch spontane ionale Konzentrationsschwankungen in ab- und aufsteigenden Nervenfasern des Rükkenmarks zu der Spontanaktivität an den Hinterwurzeln beitragen, indem sie nach Art der präsynaptischen Hemmung an den Terminalen der afferenten Fasern Hinterwurzelpotentiale erzeugen, die elektrotonisch auf die Hinterwurzeln fortgeleitet werden. (Näheres zu den Hinterwurzelpotentialen siehe SIMPSON, 1976.) Eine Verstärkung der Spontanaktivität unter Li wird in Abbildung 12 nicht sehr deutlich, möglicherweise, weil das Li schon in einem vorangegangenen Versuch appliziert und nicht ganz ausgewaschen worden war, oder weil das Rückenmark schon von vornherein eine hohe spontane Ak-

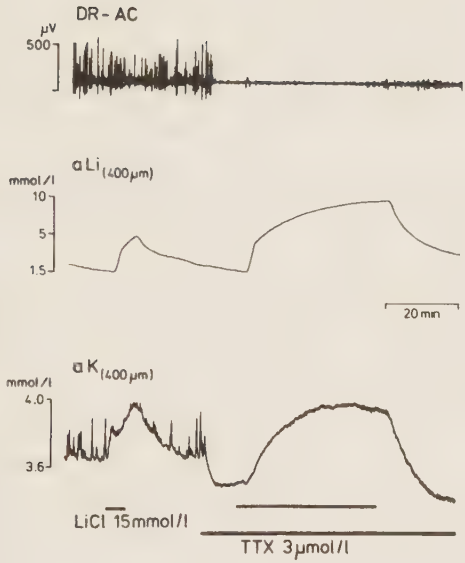

Abb. 12: Li-induzierter Anstieg des extrazellulären Kaliums (K_e) in Anwesenheit von TTX

Oben: Ableitung der spontanen Aktivität im Rückenmark von einer Hinterwurzel mittels AC-gekoppelter Saugelektrode.

Mitte: Wiedergabe des Differenzsignals der Li-sensitiven Seite einer Tripel-Mikroelektrode, die sich extrazellulär in 400 µm Gewebstiefe befand.

Unten: Über den 2. ionensensitiven Kanal dieser Elektrode wurde das Verhalten der K_e-Aktivität (aK) unter Li vor und während TTX Applikation registriert.

TTX bewirkte eine Blockade jeglicher neuronalen Aktivität und entsprechend auch einen Abfall von K_e. Auch unter diesen Bedingungen führte die Li-Applikation zu einen K_e-Anstieg.

Da Li schon vor Beginn dieser Versuchsreihe appliziert und nicht vollständig ausgewaschen worden war, ging die Messung der extrazellulären Li-Aktivität (aLi) nicht vom Basiswert Null aus.

tivität aufwies. Die Abbildung zeigt jedoch klar den Anstieg des K_e wenige Minuten nach der Li-Gabe.

Um zu testen, ob dieser Ke-Anstieg auch unabhängig von jeglicher Spontanaktivität aufgetreten wäre, wurde im 2. Teil des Versuchs einige Zeit vor der Li-Applikation Tetrodotoxin (TTX) ins Bad eingewaschen. TTX blockiert bekanntlich die spannungsabhängigen Na-Kanäle, welche für die Entstehung eines Aktionspotentials von Bedeutung sind. Daher war unter TTX die gesamte Spontanaktivität im Rückenmark unterdrückt, wie die Ableitung von den Hinterwurzlen demonstriert. Aus demselben Grund fiel zugleich auch die K_e-Basiskonzentration etwas ab. Doch auch unter diesen Bedingungen vermochte Li einen Anstieg des K_e hervorzurufen.
Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß die Änderung der K_e-Konzentration eine direkte Li-Wirkung darstellt, unabhängig von einer eventuell zugleich erhöhten Spontanaktivität. Umgekehrt könnte der K_e-Anstieg für die Erhöhung der Spontanaktivität unter Li verantwortlich sein. Diese Möglichkeit wird im 3. Abschnitt des Ergebnisteils näher untersucht werden.

2.1.3 Wirkung einer Reduktion des extrazellulären Natriums (Na) auf K_e

Es wäre denkbar, daß der unter Li beobachtete K_e-Anstieg kein direkter Li-Effekt war, sondern aus der verminderten Na-Konzentration in der Ringerlösung resultierte, da 15 mM NaCl durch 15 mM LiCl ausgetauscht worden waren.

Um zu untersuchen, ob dieser Na-Mangel allein einen K_e-Anstieg bewirken könnte, wurde ein Kontrollversuch durchgeführt, bei dem 15 mM des Ringer-NaCl gegen eine entsprechen-

de Menge Saccharose substituiert waren. Die K-sensitive Mikroelektrode registrierte nach Einwaschen der Saccharose-Ringerlösung keine Veränderung des K_e im Rückenmarksgewebe, so daß bei dem K_e-Anstieg von einer primären Li-Wirkung ausgegangen werden kann.

2.1.4 Li-Wirkung auf K_e nach repetitiver DR-Stimulation

Unter dem Punkt 1.2.1 wurde schon das charakteristische Verhalten von K_e bei repetitiver DR-Stimulation beschrieben (siehe auch Abb. 5). Im folgenden Versuch sollte die Wirkung von 15 mM Li auf die posttetanische K_e-Kinetik studiert werden. Zu diesem Zweck war eine K-sensitive Mikroelektrode in der Nähe des Motoneuronenpools extrazellulär positioniert.

In den ersten Sekunden nach der repetitiven DR-Stimulation erfolgte der Abfall des akkumulierten K_e unter Li-Wirkung etwa gleich schnell wie unter Kontrollbedingungen, die weitere K_e-Erholungsphase verlief jedoch in Gegenwart von Li deutlich verzögert. Zur Veranschaulichung dieses Li-Effekts sind in Abbildung 13 die K-Kinetiken in Li-freier Ringerlösung und 20 Minuten nach Beginn der Li-Applikation übereinander projiziert.

Zugleich läßt die Abbildung als weiteren Li-Effekt einen Anstieg des Basis-K_e um 0,7 mM erkennen (siehe Punkt 2.1.1). Daher mußte bezüglich der veränderten K_e-Kinetik im nächsten Versuchsschritt zwischen einer primären Li-Wirkung und einem sekundären Effekt der erhöhten K_e-Basiskonzentration differenziert werden.

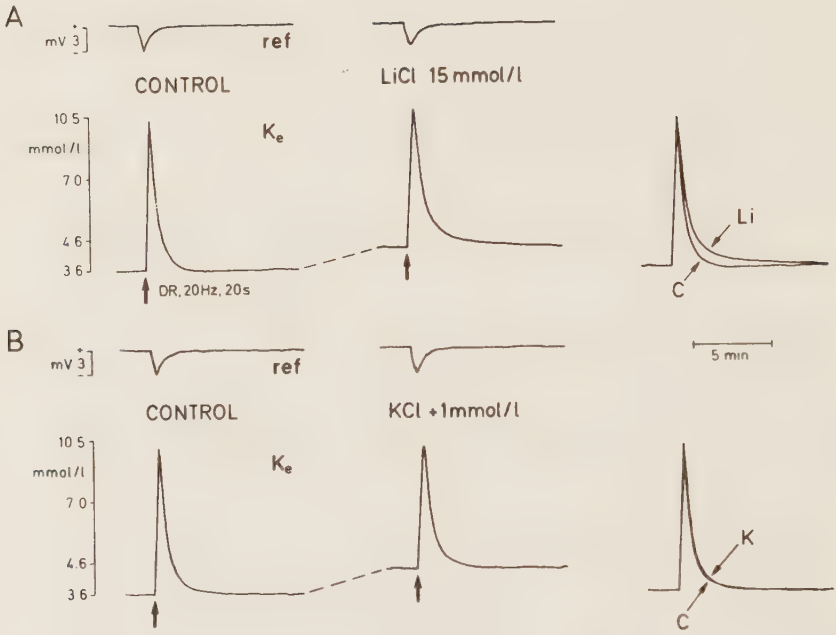

Abb. 13: Li-Wirkung auf das extrazelluläre Kalium (K_e) nach repetitiver Stimulation der Hinterwurzel (DR)

Die K-sensitive Mikroelektrode war extrazellulär im Motoneuroenengebiet positioniert. Die linke Spalte in Zeile A und B gibt jeweils die K_e-Kinetik bei repetitiver DR-Stimulation in normaler Ringerlösung mit 3,6 mM KCl-Gehalt wieder.

A: Die mittlere Spalte veranschaulicht die verzögerte K_e-Erholungskinetik 20 Minuten nach Beginn der Li-Applikation. Die K_e-Basiskonzentration war unter Li um etwa 0,7 mM angestiegen. Rechts sind die K_e-Kinetiken unter Kontrollbedingungen (C) und unter Li (Li) übereinander projiziert.

B: In der mittleren Spalte wurde der K-Anstieg durch eine passive K-Konzentrationserhöhung in der Badlösung imitiert, und es wurde wieder repetitiv stimuliert.
Der Vergleich der K_e-Erholungsphase in Standard-Ringerlösung (C) und nach Addition von 1 mM KCl (K) in der rechten Spalte läßt keine Änderung durch den Anstieg des Basis-K_e erkennen.

2.1.5 K-Wirkung auf K_e nach repetitiver DR-Stimulation

Durch Addition von 1 mM KCl zur Badlösung wurde versucht, den Li-induzierten Anstieg der K_e-Basiskonzentration von ca. 0,7 mM im Rückenmark nachzuvollziehen. Wie der Abschnitt B der Abbildung 13 zeigt, blieb jedoch unter diesen Bedingungen die K_e-Erholungskinetik nach repetitiver DR-Stimulation unverändert. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß der K_e-Anstieg unter Li nicht für die Verzögerung der K_e-Erholungsphase verantwortlich war, wie sie unter 15 mM Li beobachtet wurde.

2.2 Li-Wirkung auf das intrazelluläre K (K_i)

2.2.1 Li-Wirkung auf die K_i-Basiskonzentration

Während einer Langzeitapplikation von 15 mM LiCl - substituiert gegen die entsprechende Menge NaCl der Ringerlösung - registrierte eine K-sensitive Mikroelektrode die K-Konzentration in einem Motoneuron. Es ergab sich ein leichter, kontinuierlicher K_i-Abfall, bis nach etwa 50 Minuten Li-Applikationszeit ein neues Steady-state zwischen intra- und extrazellulärer K-Konzentration erreicht schien. K_i war zu diesem Zeitpunkt um ca. 3 mM abgefallen. In der Li-Auswaschphase erfolgte ein entsprechender Wiederanstieg von K_i. Diese Li-Wirkung läßt sich auch aus der Abbildung 14 ablesen.

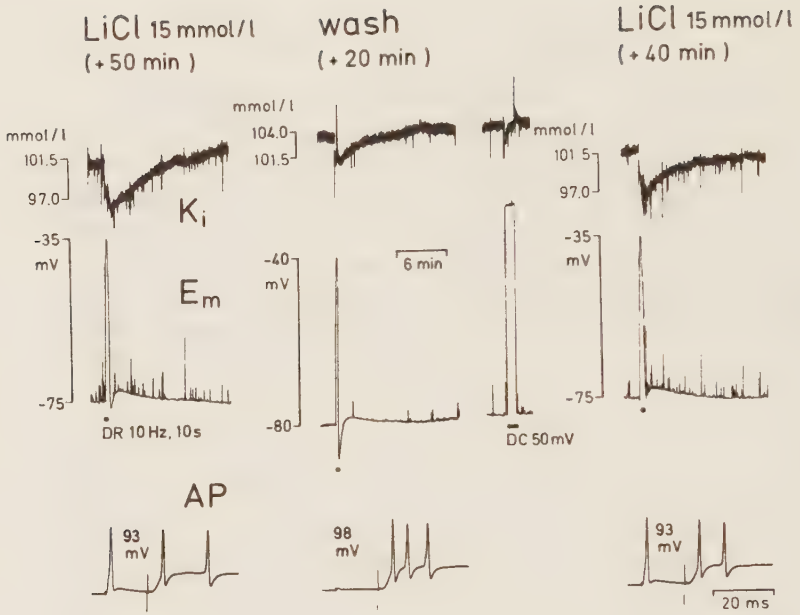

Abb. 14: Li-Wirkung auf das Verhalten des intrazellulären Kaliums (K_i) bei repetitiver Hinterwurzel-(DR)Stimulation

Die K-sensitive Mikroelektrode (K-ISME) befand sich im Soma eines Motoneurons. Ihr Referenzkanal registrierte das Membranpotential (E_m).

Links: Während 50-minütiger Li-Applikationszeit war die K-Basiskonzentration abgesunken und hatte sich auf einem niedrigeren Wert stabilisiert. Unter der repetitiven DR-Stimulation fiel K_i in Gegenwart von Li verglichen mit der Auswaschphase deutlich stärker ab und kehrte verzögert zum Ausgangswert zurück.

Mitte: 20 Minuten nach Beginn der Auswaschphase.

Rechts: 40 Minuten nach erneuter Li-Applikation konnte diese veränderte K_i-Kinetik reproduziert werden. Auch die K_i-Konzentration war wiederum vermindert.
Der DC-Puls diente zur Kontrolle des Artefakts, welches durch eine rasche Spannungsänderung am Differenzsignal der K-ISME entstand.

AP: Die unterste Zeile zeigt jeweils die intrazellulär abgeleiteten Aktionspotentiale (AP): zunächst ein antidromer Spike und darauf folgend die ersten orthodromen AP's unter der repetitiven Stimulation. Letztere sind in der Auswaschphase größer als in Gegenwart von Li. Näheres siehe Text Punkt 2.2.1 und 2.2.2.

2.2.2 Li-Wirkung auf das Verhalten von K_i bei repetitiver DR-Stimulation

Unter dem Punkt 1.1.3 wurde schon das Verhalten von K_i bei repetitiver DR-Stimulation unter Normalbedingungen beschrieben (siehe auch Abb. 4). In Abbildung 14 sind die posttetanischen K_i-Kinetiken dargestellt, wie sie von einer intrazellulären K-sensitiven Mikroelektrode nach 50 bzw. 40-minütiger Li-Einwirkungszeit und in der Li-Auswaschphase registriert wurden.

Im Vergleich zur Li-Auswaschphase zeigte sich in Gegenwart von Li ein deutlich stärkerer K_i-Abfall unter der Stimulation. Während die Geschwindigkeit des K_i-Abfalls in beiden Fällen etwa gleich war, dauerte der K_i-Abfall unter Li-Wirkung länger an. Dies war mit einer verzögerten Repolarisation des Membranpotentials in Anwesenheit von Li verbunden, so daß der Minimalwert von K_i jeweils mit dem Zeitpunkt der maximalen posttetanischen Membranhyperpolarisation zusammenfiel, wobei letztere unter Li nur andeutungsweise vorhanden war. Aus der Reproduzierbarkeit dieser veränderten K_i-Kinetik durch erneute Li-Gabe kann man schließen, daß es sich hierbei um echte Li-Effekte und nicht um zufällige Erscheinungen handelte (siehe linke Spalte der Abb. 14).

Die unterste Zeile der Abbildung 14 faßt noch einmal die Li-Wirkung auf die Aktionspotentialamplitude zusammen, welche schon unter Punkt 1.1.3 beschrieben wurde. Durch den Rückgang der depolarisierenden Li-Wirkung auf das Membranpotential (siehe Punkt 1.1.1) war in der Li-Auswaschphase die Membran im Vergleich zu den Li-Experimenten relativ hyperpolarisiert. Die Amplitude des orthodromen Aktionspotentials erfuhr unter diesen Bedingungen eine Vergrößerung, das antidrome Aktionspotential dagegen war blockiert.

3. Li- und K-Wirkung auf die synaptische Übertragung

3.1 Li-Wirkung auf die Spontanaktivität

Häufig konnte kurz nach dem Wechsel von der Standard-Ringerlösung zur Li-haltigen Badlösung (15 mM) eine Zunahme der Spontanaktivität im Froschrückenmark registriert werden. Die Abbildungen 10 und 15 veranschaulichen diesen Li-Effekt, der bei der intrazellulären Ableitung des Motoneuronen-Membranpotentials an den gehäuft auftretenden spontanen synaptischen Potentialen erkennbar war. Bei längerer Li-Einwirkungszeit nahm die Spontanaktivität wieder ab.

3.2 Li-Wirkung auf spinale Reflexe

Reizt man eine Hinterwurzel (DR) mit einem Einzelstimulus überschwellig, so ruft die Erregung der primären Iα-Afferenzen über ein monosynaptisches erregendes Potential (EPSP) ein Aktionspotential an denjenigen Motoneuronen hervor, die in der Entladungszone der Iα-Afferenzen liegen (siehe ten BRUGGENCATE, 1972). Diese Reizantwort nennt man Hinterwurzel-Vorderwurzel-Reflex (DR-VR-Reflex). Bei ausreichender Reizstärke werden auch langsamer leitende Afferenzen (Flexorreflexafferenzen der Gruppen II-IV) erregt. Sie führen über die Zwischenschaltung von spinalen Interneuronen mit einer entsprechenden synaptischen Latenz zur Auslösung von erregenden und hemmenden postsynaptischen Potentialen (EPSP's und IPSP's) an Dendriten und Somata der Motoneurone. Die Summation dieser postsynaptischen Potentiale (PSP's) läßt sich extrazellulär als elekrotonisch auf die Axone fortgeleitetes Vorderwurzelpotential (DR-VRP) ableiten.

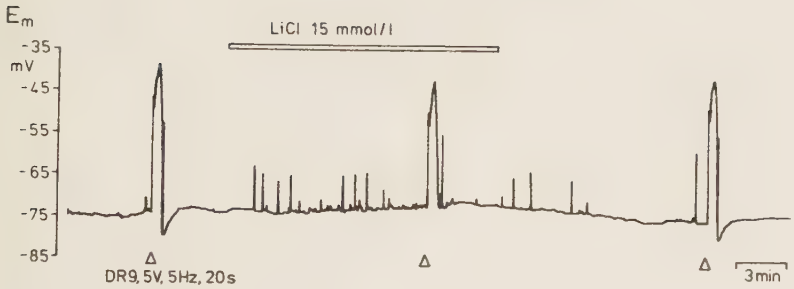

Abb. 15: Li-Wirkung auf die Spontanaktivität

Das Membranpotential (E_m) eines Motoneurons wurde intrazellulär abgeleitet. Die Pfeile kennzeichnen die repetitive DR-Stimulation in regelmäßigen Abständen. Bis zum Beginn der Li-Applikation war das E_m relativ konstant. Etwa zwei Minuten nach Wechsel zur Li-haltigen Ringerlösung registrierte die Elektrode rasche Potentialschwankungen als Hinweis auf eine gesteigerte spontane synaptische Aktivität im Froschrückenmark.

Diesen Ausführungen entsprechend erhielt man bei überschwelliger DR-Einzelreizung an der VR des zugehörigen spinalen Segments eine Reflexantwort, die sich aus einer raschen, steil ansteigenden monosynaptischen Komponente und einer länger dauernden polysynaptischen Komponente zusammensetzte. Abbildung 16 zeigt ein Beispiel für ein derartiges DR-VRP und für die Veränderung, die es unter Einwirkung von 15 mM Li erfuhr. Man erkennt, daß die Amplitude der polysynaptischen Komponente unter der Li-Wirkung deutlich reduziert wurde.

3.3 K-Wirkung auf Membranpotential und Spontanaktivität

Wurde die K-Konzentration in der Standard-Ringerlösung mit einer Basis-K-Konzentration von 3,6 mM um 1 mM erhöht, so zeigte das Rückenmark eine verstärkte spontane Aktivität. Zugleich ergab die intrazelluläre Ableitung eine Depolarisation des Ruhemembranpotentials.

Abbildung 13 zeigt, daß die Addition von 1 mM K zur Badlösung im Rückenmarksgewebe einen ähnlichen K_e-Anstieg hervorrief wie die Applikation von 15 mM Li. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß die Li-Effekte auf die Spontanaktivität und das Membranpotential sekundär durch den K_e-Anstieg unter Li bedingt waren.

3.4 K-Wirkung auf spinale Reflexe

Abbildung 16 illustriert die K-Wirkung auf das DR-VRP und stellt sie der Li-Wirkung gegenüber. In der unteren Zeile ist die VR-Reflexantwort auf einen DR-Einzelstimulus während Superfusion mit normaler Ringerlösung als Kontrolle und nach Addition von 1 mM KCl dargestellt. Ähnlich wie in Ge-

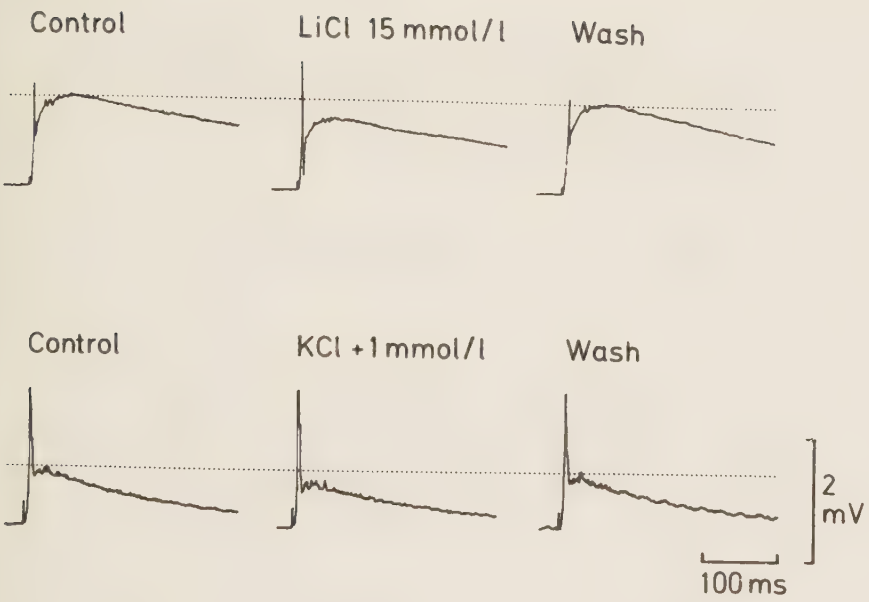

Abb. 16: Li- und K-Wirkung auf spinale Reflexe

Nach einem überschwelligen Einzelstimulus an der Hinterwurzel (DR) konnte an der Vorderwurzel (VR) des entsprechenden Rückenmarksegments mittels Saugelektrode eine typische Reflexantwort abgeleitet werden, welche aus einer kurzen steilen monosynaptischen und einer langsameren, länger andauernden polysynaptischen Komponente (DR-VRP) bestand.

Oben: Während Li-Applikation (mittlere Spalte) war die Amplitude des DR-VRP im Vergleich zur Kontrolle (links) und zur Li-Auswaschphase (rechts) deutlich reduziert.

Unten: Die polysynatpische Reflexkomponente wurde auch durch Addition von 1 mM KCl zur Standard-Ringerlösung (3,6 mM KCl) verkleinert.

Es scheint sich also bei der Li-Wirkung der oberen Zeile nicht um einen direkten Li-Effekt zu handeln, sondern um eine sekundäre Folge des unter Li erhöhten extrazellulären Kaliums.

genwart von 15 mM Li war auch bei passiver Erhöhung von K_e die polysynaptische Komponente der Reflexantwort reversibel in ihrer Amplitude reduziert. Auch bei dieser Li-Wirkung auf spinale Reflexe könnte also die Li-induzierte K_e-Erhöhung eine Rolle spielen.

3.5 Posttetanische Fazilitierung des DR-VRP und Li-Wirkung

Bei dem Versuch, welcher der Abbildung 17 zugrunde liegt, wurde derselbe Einzelstimulus an der Hinterwurzel einmal kurz vor einer repetitven DR-Stimulation (a) und einmal danach, während der nun folgenden posttetanischen Hyperpolarisationsphase (b) gesetzt. Die Amplitude der polysynaptischen VR-Reflexkomponente war während der Hyperpolarisationsphase im Vergleich zur Kontrolle (a) deutlich vergrößert. Das ließe sich als Fazilitierung der synaptischen Übertragung in der Phase kurz nach dem Tetanus deuten. Eine posttetanische Aktivierung der synaptischen Übertragung würde an den Motoneuronen einen verstärkten Input von EPSP's und IPSP's bewirken, was an der VR-Ableitung in einer Amplitudenvergrößerung der polysynaptischen Reflexkomponente zum Ausdruck käme.

Derselbe Versuch unter dem Einfluß von 15 mM Li ergab den schon bekannten Wegfall der PTH-Phase (siehe Punkt 1.2.4). Mit Hilfe der Einzelstimuli vor und kurz nach der repetitiven Stimulation konnte nun die funktionelle Bedeutung dieses Li-Effekts näher untersucht werden. In Abbildung 17 sind die Reflexantworten (a) und (b) in Li-haltiger und Li-freier Badlösung einander gegenübergestellt. Zunächst ist auch hier die schon beschriebene allgemeine Amplitudenabnahme der polysynaptischen Komponente unter Li sichtbar:

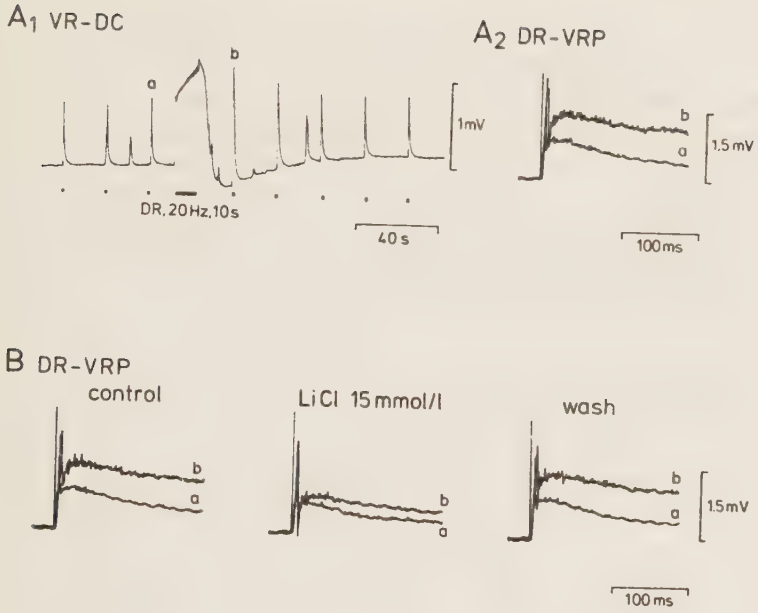

Abb. 17: Li-Wirkung auf die posttetanische Potenzierung polysynaptischer Reflexe

A_1: Ableitung des Membranpotentials spinaler Motoneurone DC-gekoppelt über eine Saugelektrode von einer Vorderwurzel (VR). Die Punkte kennzeichnen jeweils einen im 20-Sekunden-Intervall ausgelösten Einzelreiz an der Hinterwurzel (DR). Der Balken entspricht der repetitiven DR-Stimulation.

A_2: Vorderwurzelreflexantwort auf einen DR-Einzelreiz (DR-VRP) in schneller Zeitschreibung vor der tetanischen Stimulation (a), und kurz danach (b), im Maximum der posttetanischen Hyperpolarisationsphase (PTH). In der PTH-Phase ergab sich eine deutliche Zunahme der Amplitude des polysynaptischen Reflexes.

B : DR-VRP unter Kontrollbedingungen (control), in Gegenwart von Li (LiCl) und in der Auswaschphase (wash). Li bewirkte eine allgemeine Verkleinerung der polysynaptischen Reflexkomponente. Zusätzlich war die Fazilitierung der Reflexantwort in der PTH-Phase unter Li deutlich geringer. Dieser Li-Effekt erwies sich als vollständig reversibel.

die Amplitude von (a) war unter Li kleiner als im Kontrollversuch (siehe auch Punkt 3.2). Außerdem läßt sich erkennen, daß die Amplitudendifferenz zwischen (a) und (b) während der Li-Applikation im Vergleich zur Kontrolle deutlich vermindert war. Das Verschwinden der PTH-Phase unter Li geht also einher mit einer Verminderung der Fazilitierung, welche die Reflexantwort normalerweise in dieser Phase erfährt. Nach Auswaschen von Li ließen sich die Ergebnisse der Kontrolle vollständig reproduzieren.

3.6 Extrazelluläres K und PTH

In einem Li-Langzeitversuch von mehreren Stunden zeigte sich, daß der zunächst beobachtete K_e-Anstieg im Rückenmarksgewebe im Laufe der Li-Einwirkungszeit wieder abnahm. Trotz der Rückkehr der K_e-Konzentration zum Normbereich fehlte jedoch während der gesamten Li-Einwirkungszeit die posttetanische Hyperpolarisation, welche regelmäßig in Li-freier Lösung nach repetitiver DR-Stimulation auftrat. In diesem Langzeitversuch ließ sich die PTH nicht intrazellulär aus einem Motoneuron ableiten, da eine intrazelluläre Messung über viele Stunden nur sehr selten stabil gehalten werden konnte. Daher wurde das elektrotonisch auf die Motoneuron-Axone fortgeleitete Äquivalent der PTH mittels Saugelektroden DC-stabil an einer Vorderwurzel registriert.

Das Ergebnis dieses Langzeitversuchs läßt vermuten, daß die Blockade der PTH unter Li nicht direkt von der erhöhten K_e-Konzentration abhängig ist, da die PTH weiterhin fehlte, während das erhöhte K_e langsam aus dem Extrazellulärraum des Gewebes ins Bad ausgewaschen wurde. Erst beim Auswaschen von Li erschien die PTH wieder. Zugleich trat ein Unterschwingen im K_e unter den Ausgangswert auf.

D) DISKUSSION

1. Li und die Na-K-Pumpe

Wie schon in der Einleitung erwähnt wurde, gibt es unter den bisherigen Ergebnissen der Li-Forschung einige Hinweise dafür, daß Li auf zellulärer Ebene mit der Na-K-Pumpe in Interaktion tritt. Um diese Li-Wirkung auf die Pumpe genauer charakterisieren zu können, sind Kenntnisse über den transmembranalen Li-Transport und speziell über die diesbezügliche Rolle der Na-K-Pumpe erforderlich. Daher sollen im folgenden kurz die wichtigsten bekannten transmembranalen Transportmechanismen für Li beschrieben werden.

1.1 Transmembranale Li-Transportwege

1.1.1 Li-Einwärtstransport über die spannungsabhängigen Na-Kanäle

Es ist schon lange bekannt, daß die Na-Ionen bei der Erzeugung eines Aktionspotentials durch Li-Ionen ersetzt werden können (siehe KEYNES und SWAN, 1959), denn Li vermag die spannungsabhängigen Na-Kanäle als Eintrittspforte in die Nervenzelle zu benutzen (siehe HILLE, 1970). Entsprechend wiesen GORKIN und RICHELSON (1981) und REISER und DUHM (1982) an Nervenzellkulturen einen durch Veratradine stimulierbaren Li-Einstrom über die spannungsabhängigen Na-Kanäle nach. Veratradine führt bekannterweise zu einer Aktivierung der spannungsabhängigen Na-Kanäle. Jedoch zeigen beide Arbeiten, daß auch an der ruhenden Zellmembran ein Li-Einstrom stattfindet, welcher durch Gabe von TTX, einem spezifischen Blocker dieser Na-Kanäle, unbeeinflußt bleibt.

Während die schnellen Na-Kanäle nur bei neuronaler Aktivität einen Li-Einstrom ermöglichen, könnte die Na-K-Pumpe zum Li-Einwärtstransport unter Ruhebedingungen beitragen.

1.1.2 Li-Einwärtstransport über die Na-K-Pumpe

RITCHIE und STRAUB (1980) konnten durch Messungen des O_2-Verbrauchs an unmyelinisierten Nervenfasern zeigen, daß Li-Ionen die Na-K-Pumpe über die K-Bindungsstelle der Pumpe zu aktivieren vermögen. Isolierte Untersuchungen eines aktiven Li-Einwärtstransports, wie sie beispielsweise von RANG und RITCHIE (1968) am Kaninchen-Vagus und von PANDEY et al. (1979) am Erythrozyten durchgeführt wurden, ergaben, daß Li anstelle des extrazellulären K über die Na-K-Pumpe in die Zelle transportiert werden kann. Jedoch besitzt Li nach den genannten Autoren im Vergleich zu K eine sehr viel geringere Effektivität bei der Pumpenaktivierung. Daher sei nur in Abwesenheit von externem K mit einem Ouabain-sensitiven Li-Einstrom zu rechnen.

Neuere Arbeiten lassen dagegen vermuten, daß auch in Anwesenheit von externem K ein aktiver Li-Einstrom über die Pumpe möglich ist. So fand DUHM (1982) am Erythrozyten des Menschen sogar eine Aktivierung der Li-Aufnahme bei niedriger externer K-Konzentration (K_e). Erst höhere K_e-Werte führten zu einer Hemmung des Li-Einstroms in die roten Blutzellen. Auch liefert DUHM (1982) Gründe zu der Annahme, daß Li bei seinem Einwärtstransport über die externe K-Stelle der Pumpe den Austauschmodus der Pumpe verändern könnte, und zwar im Sinne einer Bevorzugung des K-K- gegenüber dem Na-K-Austausch. Weiterhin ist nach DUHM ein Einfluß von Li auf die Elektrogenität der Pumpe über ein verändertes Na-K-Koppelungsverhältnis beim Pumpvorgang denkbar. Im Gegensatz zu RICHELSON (1977) und JANKA et al. (1980a) gelang

es REISER und DUHM (1982) an Nervenzellkulturen ebenfalls eine Ouabain-sensitive Li-Aufnahme nachzuweisen, welche durch niedrige externe K-Konzentrationen gefördert, durch höhere unterdrückt wurde.

Es scheint also auch in Anwesenheit von externem K ein Li-Einstrom über die Na-K-Pumpe möglich zu sein. Jedoch bestehen in der Literatur unterschiedliche Auffassungen darüber, in welchem Ausmaß die Na-K-Pumpe bei physiologischen Na- und K-Konzentrationen am Li-Einwärtstransport beteiligt ist. Während REISER und DUHM (1982) der Na-K-Pumpe unter physiologischen Bedingungen nur eine geringe Rolle bei der Entstehung des intrazellulären Li-Spiegels einräumen, nimmt beispielsweise SMITH (1979) an, daß sogar bei niedriger, pharmakologischer Li-Konzentration im Gleichgewichtszustand mehr als die Hälfte des Li-Einstromes in C-Nervenfasern aktiv über die Pumpe erfolge.

Zudem scheinen Spezies-spezifische Unterschiede von Bedeutung zu sein. So berichten DUHM und LENZ (1980), daß am menschlichen Erythrozyten weniger als 10 % der Li-Aufnahme durch die Pumpe getragen würden, während am Ratten-Erythrozyten die Li-Aufnahme zu einem großen Teil mittels Ouabain blockierbar sei.

1.1.3 Li-Leckstrom in die Zelle

Als weitere Möglichkeit für den Li-Einstrom nennen REISER und DUHM (1981) einen durch externes Na und K hemmbaren Transportweg. Dieser sei mit dem Weg vergleichbar, über welchen der basale Na-Einstrom in die Zelle erfolge. Hier könnte auch ein Zusammenhang mit dem sogenannten Leck bestehen, welches u.a. DUHM und BECKER (1977) und PANDEY et al. (1979) als Erklärung für den Ouabain-resistenten Li-Einstrom anführen.

1.1.4 Li-Auswärtstransport über die Na-K-Pumpe

KEYNES und SWAN (1959) beobachteten am Froschmuskel einen aktiven Li-Auswärtstransport, dessen Geschwindigkeit jedoch nur 1/10 bis 1/25 der Geschwindigkeit des Na-Auswärtstransportes betrug. Entsprechend stellten DUNHAM und SENYK (1977) bei Untersuchungen des Li-Transportes am roten Blutkörperchen fest, daß intrazelluläres Li im Vergleich zu Na eine zehnmal geringere Affinität zur internen Na-Stelle der Pumpe besitze und daher nur bei ganz niedriger intrazellulärer Na- und K-Konzentration die Na-K-Pumpe aktivieren könne. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen RITCHIE und STRAUB (1980) bei ihren Experimenten an unmyelinisierten Nervenfasern. REISER und DUHM (1982) schließlich konnten bei physiologischen Ionenkonzentrationen an Nervenzellkulturen keinen Ouabain-sensitiven Li-Ausstrom feststellen. Diese Befunde sprechen gegen einen nennenswerten Li-Auswärtstransport durch die Na-K-Pumpe, zumindest unter physiologischen Bedingungen.

Die Existenz eines Li-Auswärtstransportmechanismus muß jedoch angenommen werden, wenn man die intrazellulären Li-Konzentrationsmessungen berücksichtigt, welche beispielsweise von KEYNES und SWAN (1959) an der Froschhaut, von THOMAS et al. (1975) am Schneckenneuron, von JANKA et al. (1980b) an primären Nervenzellkulturen und von REISER und DUHM (1982) an Hybridzellen durchgeführt wurden. Sie alle fanden bei physiologischen Ionenkonzentrationen ein Konzentrationsverhältnis von intra- zu extrazellulärem Li unter 1, während bei passiver Verteilung von Li über der Zellmembran nach der Nernst-Gleichung eine sehr viel höhere intrazelluläre Li-Konzentration zu erwarten wäre. Auch die intrazellulären Li-Messungen an Motoneuronen des Froschrückenmarks (GRAFE et al., 1982b) stimmen mit den oben genannten Befunden überein.

1.1.5 Li-Auswärtstransport über das Na-Li-Gegentransportsystem

Schon seit einigen Jahren ist bekannt, daß ein Na-Na-Gegentransportsystem die entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung einer niedrigen intrazellulären Li-Konzentration im Erythrozyten spielt (DUHM et al., 1976; EHRLICH und DIAMOND, 1980; TOSTESON, 1981b). Neuere Untersuchungen zeigen, daß dieser Transportweg auch an Nervenzellen vorhanden ist (REISER und DUHM, 1982). Das Na-Na- bzw. Na-Li-Gegentransportsystem ermöglicht je nach den Konzentrationsverhältnissen zwischen Na und Li im Intra- und Extrazellulärraum den Li-Transport in beide Richtungen. Unter physiologischen Bedingungen kann dieser Weg wohl als der wichtigste Mechanismus für den Li-Auswärtstransport aus der Zelle angesehen werden.

1.1.6 Ouabain-resistenter, von extrazellulärem Na unabhängiger Li-Ausstrom

Als weiteren Mechanismus zur Ausschleusung von Li nehmen REISER und DUHM (1982) einen Ouabain-resistenten Weg an, über welchen Li gegen einen elektrochemischen Gradienten die Zelle verlassen könne, und welcher im Gegensatz zum Na-Li-Gegentransportsystem auch im Na-freien Medium funktionsfähig sei. Einzelheiten über die Eigenschaften dieses Transportsystems sind jedoch noch nicht erforscht.

Insgesamt zeigen diese Befunde, daß die Li-Ionen beim Passieren der Zellmembran verschiedene Transportwege in Anspruch nehmen. Die Na-K-Pumpe scheint in ihrer Funktion durch die Anwesenheit von Li beeinflußt zu werden, da nach

den obigen Ausführungen eine Kompetition zwischen K und Li an der externen K-Stelle der Pumpe sowie eine verminderte interne Pumpenaktivierung durch die unterschiedliche Affinität von intrazellulärem Na und Li zur Na-Bindungsstelle denkbar sind. Auch ein veränderter Austauschmodus der Pumpenarbeit unter Li wäre möglich.

1.2 Die Elektrogenität der Na-K-Pumpe

Um im neurophysiologischen Experiment eine mögliche Li-Wirkung auf die Na-K-Pumpe erkennen zu können, sind Bedingungen nötig, unter denen die Na-K-Pumpe nachweislich stark aktiviert ist und elektrogen arbeitet. Eine elektrogene Pumpentätigkeit läßt sich an ihrer Wirkung auf das Membranpotential und die extra- und intrazelluläre Na- und K-Verteilung ablesen und somit indirekt verfolgen.

1.2.1 PTH

Die Na-K-Pumpe wird bekanntlich durch hohe intrazelluläre Na- und hohe extrazelluläre K-Konzentrationen stark aktiviert. Ein Anstieg der intraneuronalen Na-Konzentration ist beispielsweise durch repetitive Nervenfaserstimulation auslösbar. Auf eine tetanische Reizung reagiert die neuronale Membran mit einer posttetanischen Hyperpolarisation (PTH), welche schon 1957 von RITCHIE und STRAUB als Zeichen einer Aktivierung der Na-K-Pumpe durch den starken reizinduzierten Na-Einstrom gedeutet wurde. Während RITCHIE und STRAUB jedoch eine elektroneutrale Pumpenarbeit in der PTH-Phase annahmen und die Hyperpolarisation auf eine Abnahme der K-Konzentration direkt an der Außenseite der Membran zurückführten, gibt es heute zahlreiche Hinweise dafür, daß der PTH eine elektrogene Pumpenarbeit zugrunde liegt. So zeig-

te beispielsweise STRAUB (1961) durch Experimente an der Froschnervenfaser, daß zumindest ein Teil des Na-Auswärtstransports in der PTH-Phase ohne gleichzeitige Koppelung an einen äquivalenten K-Einwärtstransport stattfindet. Auch die Versuchsergebnisse von NAKAJIMA und TAKAHASHI (1966) am Streckrezeptor-Neuron des Flußkrebses weisen auf einen elektrogenen Pumpenmechanismus in der PTH-Phase hin. Zugleich widerlegen sie die Theorie von GAGE und HUBBARD (1964), daß die PTH auf einer Erhöhung der Membranleitfähigkeit für K-Ionen beruhe. Gegen letztere Annahme und für eine Beteiligung der Na-K-Pumpe an der Erzeugung der PTH spricht schließlich auch die Hemmbarkeit der PTH durch den bekannten Pumpenblocker Ouabain (siehe RITCHIE und STRAUB, 1957).

1.2.2 Posttetanischer K_e-Undershoot

Weiterhin scheint auch der nach tetanischer Reizung auftretende, kurzzeitige Abfall des extrazellulären K (K_e) unter die K_e-Basislinie (sog. posttetanischer Undershoot) die Elektrogenität der stark aktivierten Na-K-Pumpe widerzuspiegeln. Dies ergibt sich beispielsweise aus Untersuchungen von KRNJEVIC und MORRIS (1975), welche am Hirnstamm der Katze nach repetitiver Reizung primär afferenter Fasern einen Ouabain-sensitiven K_e-Undershoot registrierten. Auch in den Arbeiten von HEINEMANN und LUX (1975) und von ULLRICH et al. (1980) wird der posttetanische K_e-Undershoot als Ausdruck einer gesteigerten Na-K-Pumpaktivität gewertet.

1.2.3 PTH primärer Afferenzen

Schließlich kann nach DAVIDOFF und HACKMANN (1980) auch die posttetanische Hyperpolarisation primär-afferenter Fasern

des Froschrückenmarks als Indikator einer elektrogenen Aktivität der Na-K-Pumpe angesehen werden.

1.3 Li-Wirkung auf die elektrogene Na-K-Pumpe

Falls die Li-Ionen mit der Na-K-Pumpe in Interaktion treten und ihre Arbeit in irgendeiner Weise beeinflussen, müßte dies an den oben aufgeführten Phänomenen besonders gut sichtbar sein, da sie alle auf einer intakten elektrogenen Pumpenaktivität beruhen.

Tatsächlich beobachteten u.a. DAVIDOFF und HACKMANN (1980) nicht nur unter Ouabain, sondern auch in Gegenwart von Li-Ionen eine Verminderung der PTH primär-afferenter Fasern.

Parallel hierzu konnte der posttetanische K_e-Undershoot zum einen durch Ouabain und durch Schaffung hypoxischer Bedingungen, zum anderen auch durch Li-Gabe gehemmt werden (ULLRICH et al., 1980).

Daraus darf jedoch noch nicht auf eine Ouabain-ähnliche, hemmende Wirkung von Li auf die Na-K-Pumpe geschlossen werden. Denn wie im Zusammenhang mit dem transmembranalen Li-Transport bereits erwähnt wurde, ist Li prinzipiell fähig, die Na-K-Pumpe zu aktivieren. Entsprechend fanden RANG und RITCHIE (1968) zwar eine Ouabain-ähnliche Blockade der PTH an C-Nervenfasern des Kaninchens, wenn das gesamte extrazelluläre Na durch Li ausgetauscht worden war. Andererseits gelang es ihnen, wie später auch SMITH (1979), durch extrazelluläre Li-Applikation ebenso wie durch K-Applikation eine PTH auszulösen. Nach RANG und RITCHIE (1968) besitzt Li hierbei jedoch nur 1/30 der Effektivität von K. RANG und RITCHIE erklären diese Ergebnisse mit einem Pumpenmodell,

bei dem ein Carrier in seiner K^+-Form die Membran von der Außen- zur Innenseite nur durchqueren könne, wenn zumindest eine K-Bindungsstelle durch K oder auch durch Li besetzt sei. Die elektrogene Pumpe arbeite also nur in Verbindung mit einem gekoppelten Pumpenmechanismus. Die geringere Effektivität von Li bei der Pumpenaktivierung könnte auf einem veränderten Koppelungsverhältnis unter Li beruhen.

1.4 Folgerungen für die Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe

Obwohl Li also grundsätzlich die Fähigkeit besitzt, eine elektrogene Pumpenarbeit zu induzieren, wiesen alle beschriebenen Indikatoren einer elektrogenen Na-K-Pumpenarbeit in Anwesenheit von Li eine Schmälerung auf. Ein Ouabain-ähnlicher, hemmender Einfluß von Li auf die Pumpe scheidet nach den obigen Überlegungen als Erklärung aus. Dagegen könnte die Kenntnis des Li-Transports über die Na-K-Pumpe zum Verständnis dieser Li-Wirkung beitragen. Beispielsweise ist eine Kompetition zwischen Li und K um die externe K-Bindunsstelle als Ursache für die beobachtete Verminderung der PTH und des posttetanischen K_e-Undershoots denkbar. Li würde hierbei nicht als reiner Antagonist, sondern auch als Agonist von K fungieren, da es selbst, wenn auch mit geringerer Effektivität, die Pumpe zu aktivieren vermag.

Dagegen kommt dem Li in bezug auf das intrazelluläre Na eine antagonistische Rolle zu, da, wie oben erörtert, die interne Na-Stelle der Pumpe spezifisch durch intrazelluläres Na aktiviert wird, während sie für intrazelluläres Li viel weniger sensitiv zu sein scheint. Die schwache Li-Wirkung an der cytoplasmatischen Pumpenseite wird noch verstärkt,

wenn infolge eines teilweisen Ersatzes von Na durch Li beim Einstrom über die spannungsabhängigen Na-Kanäle und über das sogenannte Leck intrazellulär ein Na-Mangel entsteht. In entsprechender Weise wird von vielen Autoren die PTH-Blockade unter Li mit einer verminderten internen Pumpenaktivierung erklärt (siehe RITCHIE und STRAUB, 1957 u.a.).

Diese Theorie über die Li-Wirkung auf die Na-K-Pumpe wird im übrigen auch durch die flammenphotometrische Bestimmung der intrazellulären Na- und K-Konzentration in Gegenwart von Li unterstützt. So stellten GIACOBINI und STEPITA-KLAUCO (1970,II) am Streckrezeptor-Neuron und CARMELIET (1964) an Herzmuskelfasern nach Ersatz des gesamten extrazellulären Na durch Li eine Abnahme der intrazellulären Na- und K-Konzentration fest.

Es ist jedoch anzunehmen, daß ein intrazellulärer Na-Mangel und der Antagonismus zwischen intrazellulärem Na und Li weniger ausgeprägt und daher von geringerer Bedeutung für die Pumpenarbeit sind, wenn annähernd therapeutische Li-Konzentrationen vorliegen, und die extrazelluläre Na-Konzentration nur geringfügig verändert ist. Dies war beispielsweise bei den Experimenten von ULLRICH et al. (1980) der Fall. Nach den Befunden von DUHM (1982) am Erythrozyten besteht zudem kein direkter Hinweis darauf, daß niedrige Li-Konzentrationen die Na-Ausschleusung durch die Pumpe hemmen. Es soll sogar eine Beschleunigung des Pumpen-vermittelten Na-Auswärtstransportes durch Li möglich sein.

Auf der Grundlage der transmembranalen Li-Transportwege am Erythrozyten schlägt DUHM eine veränderte Elektrogenität der Pumpe als Erklärung für die Li-induzierte PTH-Blockade vor. Das Na-K-Koppelungsverhältnis könne in Gegenwart von Li eine Abwandlung in elektroneutraler Richtung erfahren, so daß nun die Pumpe relativ mehr K im Austausch gegen Na

in die Zelle transportiere. Weiterhin hält DUHM eine Li-induzierte Förderung des K-K-Austauschmodus der Pumpe für möglich. Wenn Li den K-K-Austausch aktivierte und anstelle des extrazellulären K selbst in die Zelle transportiert würde, hätte dies eine verminderte elektrogene Pumpwirkung und somit eine Hemmung der PTH und des posttetanischen K_e-Undershoots zur Folge.

Es sei noch erwähnt, daß nach DUHM (1982) zelluläres anorganisches Phosphat den K-K-Austauschmodus der Pumpe fördert. Möglicherweise ist unter Li die intrazelluläre Phosphatkonzentration erhöht, da Li nach Befunden von RITCHIE und STRAUB (1980) den Ausstrom von anorganischem Phosphat aus der Zelle zu reduzieren vermag.

Insgesamt lassen sich also nach den obigen Ausführungen folgende Feststellungen über die Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe treffen.

1. Li kompetiert mit K um die externe K-Stelle der Pumpe.
2. Die geringe Effektivität von Li bei der Pumpenaktivierung über die interne Na-Stelle kann zugleich mit einem intrazellulären Na-Mangel zu einer verminderten Pumpenleistung führen.
3. Ein Einfluß auf die Elektrogenität der Pumpe durch ein verändertes Na-K-Koppelungsverhältnis oder eine Förderung des K-K-Austauschmodus der Pumpe in Gegenwart von Li ist möglich.
4. Eine Ouabain-ähnliche Pumpenblockade durch Li scheint nicht vorzuliegen.

2. Li-Wirkung am Froschrückenmark

Es ist nun zu untersuchen, ob die Li-Effekte am Froschrükkenmark auch auf eine Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe hinweisen und somit diese Theorie über die Li-Wirkung unterstützen können.

2.1 Li-Wirkung auf Membranpotential und Membranwiderstand

Der Wechsel zur Li-haltigen Ringerlösung (15 mM) führte regelmäßig zu einer Depolarisation des Ruhemembranpotentials der Motoneurone. Zugleich ergab sich ein Anstieg der extrazellulären K-Konzentration (K_e). Dieser K_e-Anstieg trat auch unter TTX-Wirkung auf und konnte dementsprechend nicht allein durch eine Spontanaktivitätserhöhung unter Li bedingt sein. Im Li-Langzeitversuch fiel die intrazelluläre K-Konzentration (K_i) ab und stabilisierte sich auf einem niedrigeren Niveau. Eine Änderung des Membranwiderstandes war jedoch während der Li-Applikation nicht festzustellen.

Über eine Membrandepolarisation in Gegenwart von Li existieren in der Literatur bereits zahlreiche Berichte. Eine Abnahme des Membranpotentials im Na-freien Li-Medium wurde beispielsweise auch von RITCHIE und STRAUB (1957) an unmyelinisierten Nervenfasern, von OBARA und GRUNDFEST (1968) am Streckrezeptor-Neuron und von KOKETSU und YAMAMOTO (1974) am sympathischen Ganglion des Ochsenfrosches beobachtet. HAAS (1980) konnte diesen Li-Effekt an Hirnschnitten vom Hippokampus schon nach Addition von 1 bis 3 mM Li zur Superfusionslösung registrieren.

Die Membrandepolarisation unter Li läßt sich zusammen mit dem beobachteten K_e-Anstieg und K_i-Abfall als direkte Folge

der oben diskutierten Li-Interaktion mit der Na-K-Pumpe interpretieren. So würde eine Kompetition zwischen Li und K beim Einwärtstransport durch die Pumpe zu einem extrazellulären K-Anstieg, einem intrazellulären K-Abfall und entsprechend nach der Nernst-Gleichung zu einer Depolarisation des Membranpotentials führen. Der Antagonismus von Li zu Na bei der Pumpenaktivierung könnte bei eventuell gleichzeitig bestehendem intrazellulärem Na-Mangel die Pumpenarbeit behindern und zu den genannten Effekten beitragen. Ein verändertes Na-K-Koppelungsverhältnis wäre besonders dann als Ursache für die Abnahme des Membranpotentials denkbar, wenn auch im Ruhezustand der Membran eine elektrogene Pumpenkomponente existiert. Schließlich würde eine Stimulation des K-K-Austauschs durch Li ebenfalls einen intrazellulären K-Verlust und somit eine Membrandepolarisation bewirken. Diese Überlegungen stimmen mit Befunden von CARMELIET (1964) überein, der durch Untersuchungen mit radioaktiv markiertem ^{42}K an Herzmuskelzellen einen gesteigerten K-Ausstrom und einen verminderten K-Einstrom im Li-Medium nachgewiesen hat.

Eine Membrandepolarisation könnte auch als Folge einer Membranleitfähigkeitsänderung auftreten. In diesem Sinne würde eine Abnahme der Membranleitfähigkeit für K oder eine Zunahme der Leitfähigkeit für Na wirken. Solch eine Ursache für die Membrandepolarisation scheint jedoch nicht vorzuliegen, da Li zu keiner Änderung des Membranwiderstandes führte. Dies entspricht auch den Beobachtungen von HAAS (1980) an Hippokampusschnitten. Die Membrandepolarisation und der unveränderte Membranwiderstand sprechen gegen eine Ca-abhängige K-Leitfähigkeitserhöhung unter Li, welche PARTRIDGE und THOMAS (1976) auf der Grundlage ihrer Untersuchungen an Schneckenneuronen postuliert haben.

2.2 Li-Wirkung auf PTH, posttetanische Reflexpotenzierung und K_e-Kinetik

Repetitive DR-Stimulation löste an den Motoneuronen des entsprechenden Rückenmarksegments eine starke Membrandepolarisation aus, auf welche rasch eine posttetanische Hyperpolarisation (PTH) folgte. Parallel hierzu stieg unter der Stimulation das extrazelluläre K (K_e) an und kehrte nach Reizende mit charakteristischer Kinetik zum K_e-Basiswert zurück, ohne einen Undershoot zu zeigen. Als funktionelle Konsequenz der tetanischen Reizung ergab sich im Maximum der PTH-Phase eine posttetanische Potenzierung der polysynaptischen DR-VRP-Komponente. Unter Li war die PTH regelmäßig blockiert und die posttetanische K_e-Kinetik verzögert.

Wie schon an Beispielen anderer Arbeiten diskutiert wurde, sind PTH und posttetanischer K_e-Undershoot Ausdruck einer starken elektrogenen Pumpenarbeit, und ihre Blockade durch Li ist dementsprechend als Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe zu deuten. Auch die am Froschrückenmark beobachtete PTH scheint hinsichtlich obiger Feststellungen keine Ausnahme zu machen, da sie sich bei unverändertem Membranwiderstand als Ouabain-sensitiv erwies und durch Li hemmbar war. Ähnliches scheint für die K_e-Kinetik zu gelten. Denn die Parallelität des Li-Effekts auf PTH und K_e-Kinetik in den vorliegenden Experimenten läßt vermuten, daß trotz Fehlens eines K_e-Undershoots auch der posttetanischen K_e-Kinetik am Froschrückenmark ein Na-K-Pumpmechanismus zugrunde liegt. Im übrigen wurde gezeigt, daß die Veränderung der K_e-Kinetik eine primäre Li-Wirkung darstellt und nicht sekundär auf der Li-induzierten K_e-Erhöhung beruht.

Daher scheint es gerechtfertigt, die schon genannten Interaktionsmöglichkeiten von Li mit der Na-K-Pumpe auch für die

verzögerte posttetanische K_e-Kinetik verantwortlich zu machen, zumal auch die gleichzeitige Li-Wirkung auf die intrazelluläre K-Kinetik (K_i) als Indikator einer veränderten elektrogenen Pumpenarbeit gewertet werden kann. Eine Beeinträchtigung der Wiederaufnahme von K würde übereinstimmend den verstärkten K_i-Abfall, den verzögerten K_i-Wiederanstieg und die verlangsamte K_e-Kinetik in Gegenwart von Li erklären.

Zugleich mit der PTH-Blockade und der verzögerten K_e-Kinetik war auch der posttetanische Potenzierungseffekt auf die polysynaptische DR-VRP-Komponente während der Li-Applikation deutlich vermindert. Dies weist auf einen funktionellen Zusammenhang zwischen PTH und K_e einerseits und posttetanischer Reflexpotenzierung andererseits hin.

Eine posttetanische Reflexpotenzierung polysynaptischer Reflexe am Katzenrückenmark beschrieb schon WILSON 1956. Am Froschrückenmark untersuchten SYKOVA und ORKAND (1980) die Auswirkungen einer tetanischen DR-Stimulation auf das DR-VRP unter Berücksichtigung der extrazellulären K-Kinetik. Diese Arbeitsgruppe konnte erst in der späten posttetanischen Phase eine Potenzierung der polysynaptischen DR-VRP-Komponente registrieren. Zu diesem Zeitpunkt war der Reiz-induzierte K_e-Anstieg im Vergleich zu dem K_e-Wert kurz nach der Stimulation deutlich rückläufig. Hingegen bewirkte die hohe K_e-Konzentration nach Reizende eine Verminderung der polysynaptischen Reflexkomponente. Der gleiche Effekt konnte durch eine exogene K_e-Erhöhung erzielt werden. SYKOVA und ORKAND führen die späte Potenzierung der polysynaptischen DR-VRP-Komponente auf eine vorübergehende K_e-Erniedrigung unter den Basiswert zurück, welche vergleichbar dem K_e-Undershoot Folge einer starken Na-K-Pumpaktivität sei. Zu einer ähnlichen Ansicht gelangen auch CZEH et al. (1981) in ihrer Arbeit über die extrazelluläre K-Akku-

mulation am Froschrückenmark. Diese Arbeitsgruppe berichtet von einer Periode gesteigerter neuronaler Aktivität in einer bestimmten K_e-Abfallsphase nach repetitiver Stimulation. Jedoch gelang es weder SYKOVA und ORKAND (1980) noch CZEH et al. (1981) am Froschrückenmark den postulierten K_e-Undershoot direkt zu messen.

Insgesamt unterstützen diese Arbeiten die Vermutung, daß PTH und posttetanische K_e-Kinetik auf die neuronale Erregbarkeit Einfluß haben und für die Vergrößerung der polysynaptischen Reflexkomponente nach dem Tetanus von Bedeutung sind. Die Hyperpolarisation neuronaler Elemente könnte im Sinne einer präsynaptischen Fazilitierung zu einer Vergrößerung der Aktionspotentialamplituden führen und somit die gesteigerte synaptische Übertragung in der PTH-Phase bedingen.

Durch die Li-Wirkung auf die elektrogene Na-K-Pumpe wird daher nicht nur die PTH blockiert und die K_e-Kinetik verändert, sondern es ergeben sich zugleich komplexe funktionelle Konsequenzen für die synaptische Übertragung im Froschrückenmark, wie die verminderte Reflexpotenzierung nach dem Tetanus erkennen läßt.

2.3 Li-Wirkung auf die synaptische Übertragung

Häufig trat zu Beginn der Li-Einwaschphase eine Steigerung der Spontanaktivität im Rückenmark auf. Die polysynaptische Reflexkomponente des DR-VRP war unter der Wirkung von Li regelmäßig in ihrer Amplitude vermindert. Beide Li-Effekte auf die synaptische Übertragung konnten durch passive Erhöhung der K-Konzentration in der Superfusionslösung nachgeahmt werden. Auch SYKOVA und ORKAND (1980) beobachteten

nach exogener K-Gabe ähnliche Veränderungen an Spontanaktivität und DR-VRP des Froschrückenmarks. Daher können die oben genannten Li-Effekte als funktionelle Konsequenz der unter Li erhöhten K_e-Basiskonzentration gedeutet werden. Eine Depolarisation des Ruhemembranpotentials war sowohl nach Li- als auch nach K-Gabe meßbar und scheint somit den grundlegenden Mechanismus für die Veränderung der synaptischen Übertragung unter Li bzw. K darzustellen.

Während die gesteigerte Spontanaktivität eher auf eine Förderung der synaptischen Prozesse durch Li hinweist, läßt die Verminderung der polysynaptischen Reflexkomponente eine dämpfende Li-Wirkung erkennen. Auch in der Literatur finden sich Hinweise auf derartige, gegensätzliche Li-Effekte. Beispielsweise registrierten OBARA et al. (1968) und GIACOBINI und STEPITA-KLAUCO (1970,I) am Streckrezeptor-Neuron, sowie HAAS (1981) an Hippokampusschnitten ebenfalls eine gesteigerte Spontanaktivität unter Li. Parallel zu der oben beschriebenen Verminderung der polysynaptischen Reflexe sahen KOKETSU und YAMAMOTO (1974) am sympathischen Ganglion eine verminderte nikotinerge synaptische Übertragung nach Addition von Li zur Ringerlösung. Entsprechend beobachtete die Arbeitsgruppe von ten BRUGGENCATE (1981) am Ganglion cervicale superius der Ratte einen dämpfenden Li-Einfluß auf die synaptische Transmitterfreisetzung. Zugleich wird jedoch in derselben Arbeit auch von einer verstärkten Transmitterabgabe nach akuter Li-Applikation am cerebellaren Rattencortex berichtet. Eine fördernde Li-Wirkung auf die Transmitterfreisetzung stellte schließlich auch HAAS (1981) bei seinen Ableitungen an Hippokampusschnitten fest.

In Übereinstimmung mit den Befunden am Froschrückenmark zeigen MAC VICAR et al. (1981) in ihrer Arbeit über die "paradoxen Li-Effekte auf Feldpotentiale der Körnerzellen in Ratten-Hippokampus-Schnitten", daß Li an demselben Versuchsob-

jekt Effekte hervorrufen kann, die teils auf eine Verminderung, teils auf eine Förderung der synaptischen Übertragung hinweisen. So konnten MAC VICAR et al. bei verschiedenen Li-Konzentrationen einerseits verminderte Summenaktionspotentiale, andererseits die Auslösung zusätzlicher Potentiale synaptischen Ursprungs registrieren. MAC VICAR erklärt diese "paradoxen" Effekte mit der Depolarisation präund postsynaptischer Elemente unter Li. Allgemein führe eine Depolarisation von Neuronen einerseits zu verkleinerten Aktionspotentialen und entsprechend zu einer Herabsetzung der synaptischen Übertragung. Andererseits würde eine Depolarisation auch einen vorübergehenden Erregbarkeitsanstieg bedingen, bevor höhere Li-Konzentrationen einen Depolarisationsblock erzeugten.

Bezogen auf die vorliegenden Versuchsergebnisse könnte diese kurzfristige Erregbarkeitssteigerung in der initialen Erhöhung der Spontanaktivität ihren Ausdruck finden. Eine weitere Membrandepolarisation während längerer Li-Einwirkungszeit würde dann über ihren hemmenden Einfluß auf die synaptische Übertragung die beobachtete Abschwächung der Reflexantwort auf einen Hinterwurzelstimulus erklären. Dies scheint sich möglicherweise als Summationseffekt an mehreren hintereinandergeschalteten Synapsen vorwiegend an der polysynaptischen Reflexkomponente bemerkbar zu machen. Schließlich stimmt auch die Li-induzierte Abnahme der Aktionspotentialamplitude mit den Überlegungen von MAC VICAR überein. Sie kann durch die allgemeine Membrandepolarisation unter Li verursacht sein und sich zusätzlich hemmend auf die Transmitterfreisetzung an präsynaptischen Terminalen auswirken.

Insgesamt lassen sich daher die beobachteten Li-Effekte auf die synaptische Übertragung mit der Li-induzierten Membrandepolarisation erklären, welche primär auf eine Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe zurückzuführen ist.

HAAS (1981) dagegen erklärt die gesteigerte synaptische Übertragung unter Li mit einer Mobilisierung von freiem intrazellulärem Ca, für welche er letztendlich eine Ouabain-ähnliche Blockade der Na-K-Pumpe durch Li verantwortlich macht. Nach Befunden von CARMODY und GAGE (1973) an der neuromuskulären Synapse und nach Messungen der Ca-Konzentration in Schneckenneuronen durch ALDENHOFF und LUX (1980) scheint ein Li-induzierter intrazellulärer Ca-Anstieg mit daraus resultierender gesteigerter Transmitterfreisetzung grundsätzlich möglich zu sein. Jedoch muß eine Hemmung der Na-K-Pumpe durch Li nach den früheren Ausführungen über die Li-Interaktion mit der Pumpe als Ursache für diesen Effekt abgelehnt werden. Da zudem die Spontanaktivitätserhöhung unter Li am Froschrückenmark durch K-Gabe nachvollziehbar war, ist es unwahrscheinlich, daß dieser Li-Wirkung eine Ca-vermittelte gesteigerte Transmitterfreisetzung zugrunde lag. Vielmehr läßt sie sich mit der Membrandepolarisation nach Li- bzw. K-Applikation wie oben dargelegt erklären.

3. Ausblick

Zusammenfassend läßt sich nach den obigen Ausführungen feststellen, daß die Li-Effekte am Froschrückenmark letztendlich auf eine primäre Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe zurückzuführen sind. Somit würden die vorliegenden Versuchsergebnisse die eingangs dargestellte Theorie einer Li-Wirkung auf die Na-K-Pumpe unterstützen.

Da die Na-K-Pumpe universell in der Membran aller lebenden Zellen vorhanden ist, wäre es denkbar, daß sie auch im menschlichen Organismus den grundlegenden Angriffspunkt für die therapeutisch verabreichten Li-Ionen darstellt. In diesem Zusammenhang muß erwähnt werden, daß bei den akuten in

vitro-Experimenten am Froschrückenmark vergleichsweise hohe Li-Konzentrationen von 5 bis 15 mM notwendig waren, um einen Li-Effekt zu erzielen, während bei chronischer Li-Gabe am lebenden Versuchstier, ebenso wie bei der Li-Therapie am Menschen, Li in einer Konzentration von 1 mM wirksam und in höheren Dosen bereits toxisch ist.

Zur Erklärung dieser Diskrepanz in der Wirksamkeit von Li lassen sich verschiedene Faktoren anführen. Zum einen weisen Studien über die extra- und intrazelluläre Li-Verteilung am isolierten Froschrückenmark (GRAFE et al., 1982) darauf hin, daß frühestens 60 Minuten nach Beginn der Li-Applikation in 500 µm Gewebstiefe die Li-Konzentration der Badlösung erreicht war. Daher ist anzunehmen, daß die hier diskutierten Li-Effekte tatsächlich durch eine im Vergleich zur Badkonzentration viel niedrigere Li-Konzentration hervorgerufen wurden. Zum anderen muß berücksichtigt werden, daß die vorliegenden Experimente bei einer relativ niedrigen Temperatur von 20° C durchgeführt wurden, so daß demzufolge der gesamte Metabolismus und somit auch die Aktivität der Na-K-Pumpe im Froschrückenmark reduziert waren. Eine Erhöhung der Temperatur verbot sich bei der gegebenen Versuchsanordnung, da eine Stoffwechselsteigerung die Sauerstoffversorgung in tieferen Gewebsschichten gefährdet hätte. Es wäre jedoch denkbar, daß die Li-Interaktion mit einer von vornherein wenig aktiven Na-K-Pumpe erst bei höheren Li-Konzentrationen sichtbare Effekte hervorruft. Diese Überlegungen werden durch Befunde von HAAS (1981) unterstützt, der bei 35° C und einer Li-Konzentration von 5 mM deutliche Effekte an den Hippokampusschnitten verzeichnen konnte, während sich dieselbe Li-Konzentration bei Raumtemperatur als unwirksam erwies.

Trotz der unterschiedlichen Effektivität von Li in vitro und in vivo erscheint es daher zulässig, die hier gewonne-

nen Erkenntnisse über die Li-Wirkung als Denkanstoß zur Interpretation der mannigfaltigen Li-Wirkungen am Menschen zu verwenden. Auch den äußerst komplexen Veränderungen im menschlichen Organismus könnte letztendlich eine Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe zugrunde liegen. Als unmittelbarer Ausdruck eines primären Li-Angriffs an der Pumpe sollte daher im menschlichen Organismus ebenso wie im Froschrückenmark ein extrazellulärer K-Anstieg, ein intrazellulärer K-Abfall und somit eine Membrandepolarisation der Zellen erfolgen. Möglicherweise ist der Befund von GOGGANS (1980) über einen Fall akuter Hyperkaliämie während der Li-Therapie in diesem Zusammenhang zu sehen.
Es ist jedoch anzunehmen, daß ein leichter extrazellulärer K-Anstieg in der Regel rasch über die homöostatischen Regulationsmechanismen des Körpers ausgeglichen wird, so daß der K-Spiegel im Blut unter der Li-Therapie keine Veränderungen zeigen muß, während der transmembranale K-Gradient vermindert sein könnte. Diese homöostatische Gegenregulation mag auch erklären, weshalb sogar im Zustand einer schweren Li-Intoxikation mit generalisierten Krampfanfällen auffällige Veränderungen in den Serumelektrolyten und insbesondere eine Hyperkaliämie ausbleiben können (ASKENASI, 1981).

Ein Li-Effekt auf die Na-K-Pumpe wäre grundsätzlich an allen Zellarten des menschlichen Organismus vorstellbar. Er sollte sich aber besonders an elektrisch erregbaren neuronalen Zellstrukturen bemerkbar machen, da diese einer dauernden Änderung ihres transmembranalen Ionengradienten unterworfen und bei der Wiederherstellung ihres Ruhemembranpotentials auf eine aktive Na-K-Pumpe angewiesen sind. Unter den Nervenzellen wiederum reagieren möglicherweise die kleineren Elemente besonders empfindlich auf Veränderungen in der Arbeitsweise ihrer Na-K-Pumpe. Dies ist nach ten BRUGGENCATE et al. (1981) mit ihrem geringen Zellvolumen und der vergleichsweise großen Membranoberfläche erklärbar. Daher könn-

te eine Interaktion von Li mit der Pumpe bevorzugt an bestimmten neuronalen Elementen und Systemen wirksam werden, obwohl die Na-K-Pumpe grundsätzlich in den Membranen aller Körperzellen existiert. An den betreffenden Strukturen würde eine Abnahme des Membranpotentials resultieren, was sich auf die synaptische Übertragung sowohl im Sinne einer Dämpfung als auch einer Fazilitierung auswirken kann, wie die Li-Effekte am Froschrückenmark gezeigt haben. In Abhängigkeit vom Ausgangswert des Membranpotentials könnte eine Depolarisation zu einer Inaktivierung des Na-Systems führen oder ein relativ hohes Membranpotential näher an die Schwelle zur Auslösung eines Aktionspotentials heranbringen. Möglicherweise summieren sich derartige Membraneffekte an hintereinandergeschalteten neuronalen Strukturen und werden auf diese Weise erst nach außen wirksam.

Diese Überlegungen zeigen, daß Li allein über seine depolarisierende Wirkung auf das Membranpotential das funktionelle Zusammenspiel zentralnervöser Strukturen im menschlichen Nervensystem beeinflussen kann, und zwar in gegensätzlichem Sinne, je nach der gegebenen Ausgangslage von Membranpotential, Transmittervorrat und Rezeptorsensitivität. Hier liegt möglicherweise ein Ansatzpunkt für die Erklärung der ausgleichenden Li-Wirkung auf beide Phasen der manisch-depressiven Erkrankung unter chronischer Li-Einnahme.

Die Li-Interaktion mit der Na-K-Pumpe führt jedoch nicht nur zu statischen Veränderungen am Membranpotential, sondern beeinflußt auch dynamische neuronale Vorgänge, wie an der Veränderung der posttetanischen Hyperpolarisation und der synaptischen Übertragung nach repetitiver Stimulation am Froschrückenmark gezeigt werden konnte. Ähnliche Li-Effekte wären grundsätzlich auch im menschlichen Nervensystem denkbar und könnten ebenfalls an der therapeutischen Li-Wirkung beteiligt sein.

Schließlich hat die Na-K-Pumpe neben der Aufrechterhaltung des Ionengradienten über der Zellmembran noch eine Vielzahl anderer Funktionen in den einzelnen Zellen zu erfüllen. Zum Beispiel ist der Na-Gradient mitverantwortlich für die Wiederaufnahme von Neurotransmittern in Neurone und Gliazellen oder auch für die Regulation der intrazellulären Ca-Konzentration. Daher wären durch eine Interaktion von Li mit der Na-K-Pumpe in einem lebenden Organismus weitreichende, äußerst komplexe Veränderungen zu erwarten, wie sie tatsächlich in der Klinik in Form vielfältiger Nebenwirkungen beobachtet werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten die Theorie einer Wechselwirkung von Li mit der Na-K-Pumpe unterstützen. Jedoch muß gemäß den obigen Überlegungen die Frage nach dem therapeutischen Angriffspunkt von Li bei der manisch-depressiven Erkrankung weiter offen bleiben und somit auch die Frage nach der Störung, die dieser Krankheit letztendlich zugrunde liegt.

E) ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Wirkung von Li auf Membraneigenschaften und synaptische Impulsübertragung wurde mittels extra- und intrazellulärer Ableitungen an lumbalen Motoneuronen des isolierten Froschrückenmarks studiert. Ionensentitive Mikroelektroden ermöglichten die Untersuchung des Li-Effekts auf die transmembranale K-Verteilung und auf die reizinduzierten K-Veränderungen.

2. Eine Li-Konzentration von 15 mM in der Badlösung bewirkte regelmäßig eine Membrandepolarisation um 2 bis 3 mV und einen Anstieg der extrazellulären K-Konzentration (K_e) um 0,5 mM bei unverändertem Membranwiderstand. Der Li-induzierte K_e-Anstieg im Gewebe trat auch unter TTX-Einfluß auf und war daher unabhängig von einer gleichzeitigen Steigerung der Spontanaktivität. Die intrazelluläre K-Konzentration (K_i) stellte sich im Li-Langzeitversuch auf einem um 2 bis 3 mM erniedrigten Wert ein.

3. Nach repetitiver Hinterwurzelstimulation ergab sich in Gegenwart von Li, ähnlich wie nach Ouabain-Applikation, eine Verminderung der posttetanischen Membranhyperpolarisation. Während dieser Hyperpolarisation konnte keine Membranwiderstandsänderung registriert werden. Die posttetanische Rückkehrphase des reizinduzierten K_e-Anstiegs und K_i-Abfalls war unter Li-Einfluß verzögert. Die Blokkade der posttetanischen Hyperpolarisation und die verzögerte K_e-Erholungskinetik zeigten keine Abhängigkeit von der Erhöhung der K_e-Basiskonzentration durch Li.

4. Die Fazilitierung polysynaptischer Reflexe, welche normalerweise während der posttetanischen Hyperpolaristation auftrat, war unter Li vermindert.

5. Zu Beginn der Li-Applikation erfolgte häufig eine Steigerung der Spontanaktivität. Dagegen waren polysynaptische Reflexkomponenten unter Li-Einfluß in ihrer Amplitude reduziert. Beide Li-Effekte auf die synaptische Übertragung ließen sich durch exogene K_e-Erhöhung nachvollziehen und sind daher auf die primäre Erhöhung der K_e-Basiskonzentration durch Li zurückzuführen.

6. In der Diskussion wird die Theorie einer Li-Interaktion mit der Na-K-Pumpe vorgestellt. Die Li-Effekte am Froschrückenmark stehen mit dieser Arbeitshypothese in Einklang. Eine veränderte Na-K-Pumpenarbeit in Gegenwart von Li könnte schließlich auch hinsichtlich der therapeutischen Li-Wirkung am Menschen von Bedeutung sein.

F) LITERATURVERZEICHNIS

ALDENHOFF J.B., LUX H.D.
Measurement of steady state and transient changes of intracellular calcium in snail neurons under lithium-chloride.
Pflügers Arch., 384, R19 (1980)

ASKENASI R., LINKOWSKI P., LEEMAN M.
Seizures due to lithium intoxication.
Nouv. Press. Med., 10, 3481-3483 (1981)

BLEULER E.
Lehrbuch der Psychiatrie.
Springer Verlag (1979)

BRUGGENCATE G. TEN
Experimentelle Neurophysiologie.
Wilhelm Goldmann Verlag GmbH München, S. 95 f. (1972)

BRUGGENCATE G. TEN, ULLRICH A., GALVAN M., FÜRSTL H. und BAIERL P.
Effects of lithium application upon extracellular potassium in structures of the peripheral and central nervous system of rats.
In: Progress in enzyme and ion-selective electrodes.
Editors: D.W. Lübbers et al. Springer Verlag, Berlin, 135-140 (1981)

BUNNEY W.E., PERT A., ROSENBLATT J., PERT C.B., GALLAGER D.
Mode of action of lithium. Some biological considerations.
Arch. Gen. Psychiatry, 36, 898-901 (1979)

CARMELIET E.E.
Influence of lithium ions on the transmembrane potential and cation content of cardiac cells.
J. gen. Physiol. 47, 501-530 (1964)

CARMODY J.J., GAGE P.W.
Lithium stimulates secretion of acetylcholine in the absence of extracellular calcium.
Brain Res., 50, 476-479 (1973)

CORRODI H., FUXE K., HOKFELT T., SCHOU M.
Effect of lithium on cerebral monoamine neurons.
Psychopharmacologia, 11, 345-353 (1967)

CZEH G., KRIZ N., SYKOVA E.
Extracellular potassium accumulation in the frog spinal cord induced by stimulation of the skin and ventrolateral columns.
J. Physiol., 320, 57-72 (1981)

DAVIDOFF R.A., HACKMAN J.C.
Hyperpolarization of frog primary afferent fibres caused by activation of a sodium pump.
J. Physiol., 302, 297-309 (1980)

DUNHAM P.B., SENYK O.
Lithium efflux through Na/K pump in human erythrocytes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA Vol. 74, No. 7, 3099-3103 (1977)

DUHM H., EISENRIED F., BECKER B.F., GREIL W.
Studies on the lithium transport across the red cell membrane. I. Li^+ uphill transport by the Na^+-dependent Li^+ countertransport system of human erythrocytes.
Pflügers Arch., 363, 147-155 (1976)

DUHM J., BECKER B.F.
Studies on the lithium transport across the red cell membrane. II. Characterization on the lithium transport across the red cell membrane. Effects of bicarbonate and dipyridamole.
Pflügers Arch., 367, 211-219 (1977)

DUHM J., LENZ Chr.
Lithium transport into rat erythrocytes by the Na-K pump.
In: Adv. Physiol. Sci., Vol. 6 299-304 (1980)

DUHM J.
Note on the interaction of lithium ions with the transport function of the Na^+-K^+ pump.
In: Basic mechanisms in the action of lithium, Editors: Emrich H.M., Aldenhoff J.B., Lux H.D., Excerpta Medica (1982)

ECKER A., WIEDERSHEIM R., GAUPP E.
Anatomie des Frosches.
2. Abteilung, 2. Auflage, Vieweg Braunschweig (1899)

EHRLICH B.E., DIAMOND J.M.
Lithium, membranes, and manic-depressive illness.
J. Membr. Biol., 52, 187-200 (1980)

GAGE P.W., HUBBARD J.I.
Ionic changes responsible for post-tetanic hyperpolarization.
Nature, Lond., 203, 653-654 (1964)

GIACOBINI E., STEPITA-KLAUCO M.
Studies on the mechanism of action of lithium ions. I. The effect of lithium ions on the impulse activity of the crayfisch stretch receptor neuron.
Acta physiol. scand., 80, 519-527 (1970)

GIACOBINI E., HOVMARK S., STEPITA-KLAUCO M.
Studies on the mechnism of action of lithium ions. II. Potassium sensitive influx of lithium ions into the crayfisch stretch receptor neuron determined by microphlame photometry.
Acta physiol. scand., 80, 528-532 (1970)

GOGGANS F.C.
Acute hyperkalemia during lithium treatment of manic illness.
Am. J. Psychiat., 137, 860-861 (1980)

GORKIN R.A., RICHELSON E.
Lithium transport by mouse neuroblastoma cells.
Neuropharmacology, 20, 791-801 (1981)

GRAFE P., RIMPEL J., REDDY M.M., TEN BRUGGENCATE G.
Lithium distribution across the membrane of motoneurons in the isolated frog spinal cord.
Pflügers Arch. (1982a), in press

GRAFE P., RIMPEL J., REDDY M.M., TEN BRUGGENCATE G.
Changes of intracellular sodium and potassium concentrations in frog spinal motoneurons induced by repetitive synaptic stimulation.
Neurosci., (1982b), in press

HAAS H.L.
The effect of low concentrations of lithiumchloride on CA 1 pyramidal cells in hippocampal slices.
Neurosci. Letters, Suppl. 5, S 433 (1980)

HAAS H.L.
Lithium and synaptic transmission in the mammalian brain.
In: Basic mechanisms in the action of lithium, Editors: Emrich H.M., Aldenhoff J.B., Lux H.D., Excerpta Medica (1982)

HEINEMANN U., LUX H.D.
Undershoots following stimulus-induced rises of extracellular potassium concentration in cerebral cortex of cat.
Brain Res., 93, 63-76 (1975)

HILLE B.
Ionic channels in nerve membranes.
Prog. Biophys. molec. Biol. 21, 1-32 (1970)

JANKA Z., SZENTISTVANYI I., RIMANOCZY R.
The influence of external sodium and potassium on lithium uptake by primary brain cell cultures at "therapeutic" lithium concentration.
Psychopharmacol., 71, 159-165 (1980a)

JANKA Z., SZENTISTVANYI I., JUKASZ A., RIMANOCZY A.
Steady state distribution of lithium during activation of dissoziated brain cells.
Experientia 36 Birkhäuser Verlag Basel (Schweiz)(1980b)

JOPE R.S.
Effects of lithium treatment in vitro and in vivo on acetylcholine metabolism in rat brain.
J. Neurochem., 33, 487 (1979)

KAFKA M.S., WIRZ-JUSTICE A., NABER D., MARANGOS P.J., O'DONOHUE T.L., WEHR T.A.
Effect of lithium on circadian neurotransmitter receptor rhythms.
Neuropsychobiol, 8, 41-51 (1982)

KATZ R.I., CHASE T.N., KOPIN I.J.
Evoked release of norepinephrine and serotonin from brain slices: inhibition by lithium.
Science, 162, 466-467 (1968)

KEYNES R.D., SWAN R.C.
The permeability of frog muscle fibres to lithium ions.
Journal of Physiol., 147, 626-638 (1959)

KLAWANS H.L., DAMICO D.J., NAUSIEDA P.A., WEINER W.J.
Specifity of neuroleptic-induced and methysergide-induced behavioral hypersensitivity.
Progr. Neuro Psychpharmacol. 1 (1-2), 53-60 (1977)

KOKETSU K., YAMAMOTO K.
Effects of lithium ions on electrical activity in sympathetic ganglia of the bullfrog.
Br. J. Pharmacol., 50, 69-77 (1974)

KRNJEVIC K., MORRIS M.E.
Factors determining the decay of K^+ potentials and focal potentials in the central nervous system.
Can. J. Physiol. Pharmacol., 53, 923-934 (1975)

MAC VICAR B.A., WEIR G., RIEXINGER K., DUDEK F.E.
Paradoxical effects of lithium on field potentials of dentate granule cell in slices of rat hippocampus.
Neuropharmacol., 20, 489-496 (1981)

MANDELL A.J., KNAPP S.
Asymmetry and mood, emergent properties of serotonin regulation; a proposed mechanism of action of lithium.
Arch. Gen. Psychiatry, 6, 909-915 (1979)

MENDELS J., FRAZER A.
Intracellular lithium concentration and clinical response: towards a membrane theory of depression.
J. Psychiatr. Res., 10, 9-18 (1973)

NAKAJIMA S., TAKAHASHI K.
Post-tetanic hyperpolarization and electrogenic Na-pump in stretch receptor neurone of crayfish.
J. Physiol., 187, 105-127 (1966)

OBARA S., GRUNDFEST H.
Effect of lithium on different membrane components of crayfish stretch receptor neurons.
J. gen. Physiol., 51, 635-654 (1968)

OEHME M.
Beitrag zur Entwicklung ionenselektiver Mini- und Mikroelektroden und zu deren Meßtechnik.
Dissertation, Eidgenössische Technische Hochschule Zürich (1977)

PANDEY G.N.PHD, DORUS E.PHD, DAVIS J.M.MD, TOSTESON D.C.MD
Lithium transport in human red blood cells.
Archives of General Psychiatry, Vol. 36, No. 8, 902-909 (1979)

PARTRIDGE L.D., THOMAS R.C.
The effects of lithium and sodium on the potassium conductance of snail neurones.
J. Physiol., 254, 551-563 (1976)

PESTRONK A., DRACHMAN D.B.
Lithium reduces the number of acetylcholine receptors in skeletal muscle.
Science, 210, 342-343 (1980)

RANG H.P., RITCHIE J.M.
On the electrogenic sodium pump in mammalian non-myelinated nerve fibres and its activation by various external cations.
Journal of Physiol., 196, 183-221 (1968)

REISER G., DUHM J.
Pathways for transport of lithium ions in neuroblastoma x glioma hybrid cells.
In: Basic mechanisms in the action of lithium, Editors: Emrich H.M., Aldenhoff J.B., Lux H.D., Excerpta Medica (1982)

RICHELSON E.
Lithium ion entry through the sodium channel of cultured mouse neuroblastoma cells: a biochemical study.
Science, 196, 1001-1002 (1977)

RITCHIE J.M., STRAUB R.W.
The hyperpolarization which follows activity in mammalian non-medullated fibres.
J. Physiol., 136, 80-97 (1957)

RITCHIE J.M., STRAUB R.W.
Observations on the mechanism for the active extrusion of lithium in mammalian non-myelinated nerve fibres.
J. Physiol., 304, 123-134 (1980)

SCHILDKRAUT J.J., SCHANBERG S.M., KOPIN I.J.
Life Sci. 5, 1479 (1966)

SCHOU M.
Lithium-Behandlung der manisch-depressiven Krankheit. Information für Arzt und Patient.
Thieme Verlag (1980)

SIMPSON J.I.
Functional synaptology of the spinal cord. In: Frog Neurobiology, Editors: Llinas R. und Precht W.; Springer Verlag, 728-749 (1976)

SINGER I., ROTENBERG D.
Mechanisms of lithium action.
New Engl. J. Med., 289, 254-260 (1973)

SMITH I.C.H.
The electrogenic potential in rat C nerve fibres: some effects of lithium and thallium.
J. Physiol., 294, 135-144 (1979)

SONNHOF U., GRAFE P., KRUMNIKL J., LINDER M., SCHINDLER L.
Inhibitory postsynaptic actions of taurine, GABA and other amino acids on motoneurons of the isolated frog spinal cord.
Brain Res., 100, 327-341 (1975)

STRAUB R.W.
On the mechanism of post-tetanic hyperpolarization in myelinated nerve fibres from the frog.
Journal of Physiol. 159, 19-20 (1961)

SYKOVA E., ORKAND R.K.
Extracellular potassium accumulation and transmission in frog spinal cord.
Neuroscience 5, 1421-1428 (1980)

THOMAS R.C.
Ion-sensitive intracellular microelectrodes. How to make and use them.
Academic Press (1978)

THOMAS R.C., SIMON W., OEHME M.
Lithium accumulation by snail neurones measured by a new Li^+-sensitive microelectrode.
Nature, 258, 754-756 (1975)

TOSTESON D.C.
Lithiumsalze als Psychopharmaka.
Spektrum der Wissenschaft, Juni (1981a)

TOSTESON D.C.
Cation countertransport and cotransport in human red cells.
Fed. Proc., 40, 1429-1433 (1981b)

WILSON V.J.
Post-tetanic potentiation of polysynaptic reflexes of the spinal cord.
J. gen. Physiol., 39, 197-206 (1956)

ULLRICH A., BAIERL P., TEN BRUGGENCATE G.
Extracellular potassium in rat cerebellar cortex during acute and chronic lithium application.
Brain Res., 192, 287-290 (1980)

WALKER J.L.
Ion specific liquid ion exchanger microelectrodes.
Analytical Chemistry, 43, 89-92 A (1971)

Herrn Prof. G. ten Bruggencate danke ich für seine hilfreichen Verbesserungsvorschläge zu dieser Arbeit.
Besonders dankbar bin ich Herrn Dr. P. Grafe und seinen Mitarbeitern Dr. J. Rimpel und Dr. M.M. Reddy für die freundliche Aufnahme in ihre Arbeitsgruppe. Mein größter Dank gilt Herrn Dr. P. Grafe, an dessen experimenteller Arbeit ich zwei Jahre lang teilhaben durfte, und der mir bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit mit seinem theoretischen und praktischen Wissen stets beratend zur Seite stand.

Schließlich danke ich Frl. C. Müller für ihren Beitrag zu den experimentellen Vorbereitungen und für die Zeichnung der Abbildungen.

L e b e n s l a u f

Am 15.10.1958 wurde ich als zweiter Zwilling und Tochter des Apothekers Rolf Koestler und seiner Frau Evelyne Koestler in München geboren.

Von 1965-1969 besuchte ich in meiner Geburtsstadt die Grundschule und wechselte dann auf das neusprachliche Thomas-Mann-Gymnasium über, das ich 1978 nach bestandenem Abitur verließ.

Im Herbst desselben Jahres konnte ich mit meinem Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München beginnen. Dort machte ich nach vier Semestern das Physikum und legte im Sommer des Jahres 1981 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Vorprüfung ab.